

PROTOPLASMA-MONOGRAPHIEN

BAND 16

**A. GIROUD, L'ACIDE ASCORBIQUE DANS LA
CELLULE ET LES TISSUS**

Protoplasma-Monographien

Unter besonderer Mitwirkung von R. CHAMBERS (New York), E. FAURÉ-FREMIET (Paris), E. KÜSTER (Gießen), F. E. LLOYD (Montreal), W. SEIFRIZ (Philadelphia),

J. SPEK (Heidelberg), W. STILES (Birmingham)

Herausgegeben von F. WEBER (Graz) und J. PEKAREK (Graz)

BAND 16

L'acide ascorbique dans la cellule et les tissus

par

A. Giroud

Professeur agrégé à la Faculté de Médecine de Paris

48 figures dans le texte

Berlin

Verlag von Gebrüder Borntraeger

W 35 Koester Ufer 17

1938

L'acide ascorbique dans la cellule et les tissus

par

A. Giroud

Professeur agrégé à la Faculté de Médecine de Paris

48 figures dans le texte

Berlin

Verlag von Gebrüder Borntraeger

W 35 Koester Ufer 17

1938

Alle Rechte,
insbesondere das Recht der Übersetzung in fremde Sprachen, vorbehalten
Copyright 1938 by Gebrüder Borntraeger in Berlin

TABLE DES MATIÈRES

	Page
I. partie. <i>L'acide ascorbique dans la cellule et les tissus</i>	
L'acide ascorbique	3
Nature, état, recherche	3
Etat de l'acide ascorbique dans les tissus	4
Méthodes de recherche	7
Méthodes chimiques	8
Microméthode de GLICK	12
Méthode histochimique	15
II. partie. <i>L'acide ascorbique dans la cellule et les tissus des animaux</i>	
I. L'acide ascorbique dans la cellule	24
Acide ascorbique extra-cellulaire	24
Acide ascorbique cellulaire	24
Localisation intracellulaire	25
Forme oxydée et forme réduite	28
Spécificité des résultats histochimiques	29
Hypothèse de la localisation de l'acide ascorbique	30
Substances protectrices (inhibitrices)	32
Relations de l'acide ascorbique avec le glutathion et la vitamine A	37
II. L'acide ascorbique dans les tissus et les organes	40
Epithéliums de revêtement	40
Tissus glandulaires	42
Tissus glandulaires exocrines	42
Glandes endocrines	47
Sang et tissus hémo et lymphopoiétiques	61
Tissu nerveux	64
Tissu musculaire	69
Tissus conjonctifs et dérivés	71
Tissus néoplasiques	75
Tableau de répartition générale de l'acide ascorbique	76
Généralité du taux des tissus et des organes. Notion du taux normal	80
Variations du taux des tissus et des organes	82
Age, sexe, facteurs pathologiques	

echent #69644 2/6/40 Lot 3,60

40-857

Q459
P94
V.16

	Page
Considérations physiologiques	87
Synthèse, apport externe, carence	87
Relation avec le potentiel d'oxydo-réduction cellulaire	89
Intervention dans les processus physiologiques généraux et réactions élémentaires	94
Intervention dans certains processus physiologiques spéciaux	96
 III. partie. <i>L'acide ascorbique dans la cellule végétale</i>	
L'acide ascorbique chez les végétaux	102
L'acide ascorbique dans la cellule végétale	104
Système vacuolaire	104
Cytoplasme et Chloroplastes	110
Réaction de MOLISCH des Chloroplastes	112
Causes de la réaction de MOLISCH	117
Répartition dans les divers tissus végétaux	124
Méristèmes	125
Parenchyme chlorophyllien	125
Parenchymes non chlorophylliens	132
Tissus à caroténoïdes	133
Variations au cours de la vie de la plante et répartition dans ses diverses parties	139
Graine et germination	139
Plante développée	142
Considérations physiologiques	144
Relations avec la fonction chlorophyllienne	144
Rapport avec les sucres	146
Acide ascorbique et croissance	152
 <i>Bibliographie</i>	
I. Généralités et méthodes	158
II. Cellules et tissus animaux	164
III. Cellules et tissus végétaux	176
<i>Index alphabétique</i>	186

I

L'ACIDE ASCORBIQUE DANS LA CELLULE
ET LES TISSUS

L'a. ascorbique est très différent des autres vitamines et il ne rentre que tout à fait accidentellement dans ce groupe.

C'est un élément actif quasi général du métabolisme que produisent aussi bien la cellule animale que la cellule végétale.

Sa découverte simultanée dans le monde animal et végétal par SZENT-GYÖRGYI illustre bien le fait de sa généralité.

Il n'est guère que deux ou trois exceptions à la règle. C'est à cause d'elles, dont l'une nous touche particulièrement, que l'a. ascorbique se range avec les vitamines. Seuls probablement avec les singes et le cobaye nous ne synthétisons pas cette substance et par suite, elle doit en effet nous être fournie par notre alimentation.

Un grand nombre de chercheurs l'ont étudié sous tous les aspects, aussi nous trouvons nous devant une multitude de faits. Certains de ceux-ci sont bien établis, d'autres sont encore en discussion. Pour les réunir, pour les interpréter, nombre d'hypothèses ont été émises. Les points incertains, douteux, ne manquent pas, les hypothèses fragiles non plus; heureux serons-nous si leur exposé suggère quelque démonstrative recherche.

Qu'il nous soit, permis, avant d'aborder cette revue générale, d'exprimer notre reconnaissance à M. le Professeur WEBER pour l'honneur qu'il nous a fait en nous la demandant, et de remercier nos collaborateurs de l'aide précieuse qu'ils nous ont apporté.

La détermination de son potentiel d'oxydo-réduction a présenté des résultats irréguliers, probablement dus à l'existence de plusieurs formes d'oxydation. En opérant à pH 1, WURMSER et LOUREIRO [92] ont pu déterminer ce potentiel, qui à pH 7 correspond à $rH = 16,2$.

Etat de l'a. ascorbique dans les tissus

Forme — L'acide ascorbique peut se présenter sous diverses formes.

On a admis qu'il existe dans l'organisme sous ses deux formes :
réduite $\begin{array}{c} \text{C}=\text{C} \\ | \quad | \\ \text{OH} \quad \text{OH} \end{array}$ et oxydée réversible $\begin{array}{c} \text{C}-\text{C} \\ || \quad || \\ \text{O} \quad \text{O} \end{array}$ (acide déhydroascorbique).

La forme réduite serait quantitativement la plus importante de beaucoup, la forme oxydée ne présenterait que $\frac{1}{10}$ ou $\frac{1}{20}$ de la première. Telle est du moins l'interprétation à laquelle on était généralement arrivé. Après précipitation mercurique et réduction secondaire par H_2S on s'était en effet aperçu (VAN EEKELEN) que les chiffres obtenus étaient plus élevés, on en avait déduit l'existence d'une forme oxydée (par suite ni directement réductrice ni dosable). On avait même constaté des variations du rapport de la forme oxydée à la forme réduite dans diverses conditions. En particulier, pendant l'avitaminose C le rapport acide déhydroascorbique sur acide ascorbique augmenterait considérablement, passant de 0,1 à 21 (surrénale) et de 1 à 15 (foie), tandis qu'il ne varierait pas du fait du jeûne ou de la sous-alimentation (MARTINI et BONSIGNORE).

On a cru que la forme oxydée était particulièrement abondante dans le sang. Cependant, les dernières recherches de KELLIE et ZILVA [46], VAN EEKELEN [15], indiquent qu'il n'y aurait là qu'une illusion. En effet, d'une part, le corps réducteur régénéré par H_2S ne diminue pas avec un régime carencé, ce qui ne correspond pas à l'évolution attendue pour l'a. ascorbique; d'autre part, les données spectrophotométriques ne correspondent pas à ce que ces dosages permettaient d'attendre: l'intensité de la bande d'absorption des extraits à 2650 Å n'est pas supérieure après réduction par H_2S qu'auparavant. Il est probable que H_2S donne naissance à de nouvelles substances réductrices distinctes de l'acide ascorbique.

Il y aurait lieu de voir si ces faits sont limités au sang ou ne doivent pas s'étendre aux autres tissus. Signalons pour terminer

que, d'après ROE [79] (qui a utilisé la méthode au furfural) la forme réduite existerait seule dans les tissus.

De plus l'acide ascorbique existerait en partie sous forme combinée comme BEZSSONOFF [4 bis] l'a montré le premier.

Si en effet on laisse en contact son réactif avec le filtrat tissulaire avec un excès d'acide sulfurique ou si l'on chauffe avec de l'acide chlorhydrique (1 pour 4) on observe que les réactions sont accentuées et révèlent une plus grande quantité de vitamine.

Selon BEZSSONOFF [5 bis] il s'agirait de forme estérifiée: une monométhylvitamine (ester du groupement diénol) le rôle de ce corps paraissant d'ailleurs difficile à interpréter puisque injecté à l'animal il ne peut servir de source de vitamine.

Chez le chou 30% de l'acide total serait sous forme esterifié. Dans les organes comme le foie et la surrénale cette forme combinée atteindrait 10 à 14% de la teneur totale.

TILLMANS, HIRSCH et JACKISCH [88] ont obtenu également avec une série de fruits des chiffres plus élevés par ébullition acide que par extrait acide simple.

On a incriminé (VAN EEKELEN [15]) pour expliquer ces faits une extraction incomplète ou une inactivation de l'oxydase.

Le pouvoir réducteur extrait de chou augmente à partir de 36° (GUHA et PAL) [33] il est peu vraisemblable que l'oxydase soit déjà détruite. L'extraction a donné les chiffres suivants à MAC HENRY et GRAHAM [39].

Effet du chauffage sur la valeur de titration. Acide ascorbique en mg par 100 gr de tissu

tissue	raw	cooked	tissue	raw	cooked
cauliflower	19	31	cabbage	15	12
Hubbard squash	3,1	4,1	onions	8,9	3,1
potatoes (old)	1,5	4,1	broccoli	32	22
beets	2,7	6,2	corn	7,6	5,1
string beans	1,4	2,1	peas	14	8,1
carrots	1,2	2,6	asparagus	12	8,2
parsnips	3,7	6,1	turnip	35	18
spinach	18	13	bovine adrenal glands	125	141

Les auteurs pensent comme BEZSSONOFF, comme GUHA et PAL qu'il s'agit d'une libération d'acide ascorbique combiné sous une

forme soluble dans l'eau mais insoluble dans l'acide trichloracétique. Des faits analogues ont été trouvés aussi par LEVY [50] sur le chou-fleur et la pomme de terre. Chez *Maytenus*, PERROT, MILLAT et COLAS [72] pensent qu'il s'agirait d'une combinaison de nature glucosidique¹).

Etat. L'acide ascorbique existe-t-il dissout uniformément dans les tissus, ou existe-t-il partiellement ou en totalité adsorbé au niveau de certains éléments tissulaires. Ces questions ne peuvent pas encore être résolues. Toutefois certains faits semblent en faveur d'une adsorption. Les premiers résultats histochimiques de BOURNE [10] ceux de GIROUD et LEBLOND [24] de LEBLOND [49] de WESTERGAARD [91] etc. qui montrent des réductions argentiques dus à la vitamine C en des points cellulaires définis: mitochondries, appareil de GOLGI, incitent à envisager une adsorption sur ces organites. La persistance de la réaction après la congélation des tissus et après certains traitements qui comportent une possibilité de diffusion (BOURNE), (nous-mêmes) plaide en faveur de certaines liaisons entre l'acide ascorbique et les organites cellulaires (voir page 30). Les observations toutes récentes de GABBE [22] qui révèlent des phénomènes d'adsorption dans le sang au niveau de certaines protéines ou au niveau de l'hémoglobine rendent vraisemblable cette hypothèse. L'absence de dialyse du système tampon d'oxydo-réduction du cristallin probablement l'acide ascorbique noté autrefois par REISS et ROCHE [78] indiquerait qu'il existerait peut-être une liaison entre ce corps et le tissu.

Signalons enfin à cette occasion que VON EULER [18] a envisagé l'hypothèse de sa liaison avec des protéines spécifiques pour constituer une véritable ergozyme: l'enzyme ascorbique.

Stabilité. L'existence de l'acide ascorbique réduit dans les tissus pose toute une série de questions: origine, transformation, destruction auxquelles on ne peut guère répondre. Signalons cependant que certains faits éclairent son apparente stabilité au moins chez les organismes non carençables. Il est en effet protégé de l'oxydation par une série de substances.

De CARO et GIANI [12] ont montré que l'oxydation de l'acide ascorbique est empêchée par les extraits (spécialement les extraits

¹) Selon REEDMANN E. J. et Mc HENRY il existerait chez certains végétaux une forme combinée avec une protéine qui comme telle, n'est pas extraite par les liquides d'extraction habituels. Biochem. J. 32 (1938) 85.

alcooliques) des tissus. Parmi les substances organiques inhibitrices essayées ils ont noté l'acide adénylique et surtout le glutathion et la cystéine et ils supposent que ce sont surtout ces substances qui servent d'agents de protection dans les tissus. MAWSON [58] a également constaté le même fait. Des faits analogues ont été observés pour l'oxydation par le nitrate d'argent in vivo HUSZAK [44], GIROUD, LEBLOND et RATSIMAMANGA [27], MENDIVE et DEULOFEU [60] et in vitro par EMMERIE [16], SVIRBELY [83], BERSIN, KÖSTER et JUSATZ [2].

L'existence dans les tissus de substances protectrices a une importance théorique et en tout cas elle a une importance pratique puisque, pour une part, ces substances doivent assurer la stabilité relative de l'acide ascorbique après la mort. De fait en effet la cadavérisation n'entraîne que lentement la disparition de la vitamine MELKA [59], MOURIQUAND et COEUR [68], GIROUD, RATSIMAMANGA, RABINOWICZ et HARTMANN [28], MOURIQUAND, et VIENNOIS [69] ce qui pour l'étude de l'homme est d'une grande utilité.

Méthodes de recherche

On a utilisé séparément ou simultanément des méthodes biologiques, chimiques, physiques et histochimiques. Leur spécificité n'est pas toujours aussi absolue qu'on pourrait le désirer. Aussi est-il préférable de faire appel au plus grand nombre d'entre elles et de confronter leurs résultats.

Méthodes biologiques. La méthode biologique (L. RANDOIN [75], HARRIS, MILLS et INNES [35 bis]), HARRIS et RAY [35], KELLIE et ZILVA [46], KALNINS [45], etc. consiste dans l'essai direct de l'organe ou du produit comme source de vitamine C chez le cobaye au régime carencé.

A première vue elle parait la plus sûre mais elle est longue et ne peut pas toujours être utilisée pour des raisons matérielles.

Elle peut-être utilisée de deux façons: préventivement et curativement.

La méthode préventive consiste à donner aux cobayes en carence en particulier avec le régime équilibré de MME RANDOIN une quantité connue et déterminer la quantité minimale qui permet l'accroissement du poids.

La méthode curative, au contraire, consiste à mesurer quelle quantité de la substance étudiée il faut adjoindre au régime pour une reprise de l'évolution pondérale chez les animaux préalablement carencés.

Au lieu d'étudier l'évolution pondérale des animaux on peut utiliser comme test l'état des dents. (HÖJER) [41], KEY et ELPHICK) [47], et LUND, SPUR et FRIDERICA) [52].

La méthode biochimique consiste à étudier les variations de la teneur en vitamine C des organes du cobaye carencé par dosage après administration de la substance à éprouver généralement donnée en quantités importantes (GIROUD, LEBLOND, RATSIMAMANGA et BARRATTE) [26], L. RANDOIN, GIROUD et LEBLOND [76].

Méthodes chimiques. Méthode au dichlorophénol ou Méthode de TILLMANS et HIRSCH. Cette méthode [87], perfectionnée par HARRIS et RAY [36], BESSEY et KING [3], consiste à extraire la vitamine C du tissu par l'acide trichloracétique au $\frac{1}{10}$ et à doser rapidement avec une solution de 2,6 dichlorophénol-indophénol. Cette méthode a été critiquée en particulier par BEZSSONOFF et DELIRE [4]. D'après HARRIS et RAY [36] au pH 2,5 cette technique est relativement spécifique. Selon MOTTERN, NELSON et WALKER [67], seules quelques substances (cystéine, pyrogallol, réductone) peuvent réduire le réactif. Cependant certaines substances incriminées (glutathion, cystéine) n'interviennent pas ou du moins leur action perturbatrice peut être évitée si le dosage est effectuée d'une façon suffisamment rapide. Par contre certains corps réducteurs (dans les champignons, dans les produits de digestion pancréatique: peptone pancréatique) peuvent en imposer pour l'acide ascorbique selon MENTZER, VIALARD-GOUDOU [61]¹).

GLICK et BISKIND [30] ont utilisé cette méthode pour des microdosages (voir page 12).

Une étude cinétique de la réaction MEUNIER [63] permet d'en accentuer manifestement la spécificité; le comportement de l'acide ascorbique étant assez différent de celui d'autres substances.

Méthode de EMMERIE et VAN EEKELEN. Cette méthode [15, 16] utilise le dichlorophénol comme réactif mais elle comprend une précipitation préalable par l'acétate mercurique suivie d'une réduction par H_2S . Elle vise spécialement à supprimer les substances sulfurées: cystéine, glutathion, ergothionéine. Recom-

¹) Le dichlorophénol donne des chiffres un peu plus élevés que le bleu de méthylène. La différence en excès correspond à un pouvoir réducteur exprimé en ac. ascorbique équivalant à 1—5 mg. pour 100 gr. Il est possible qu'il s'agisse d'un autre corps oxydo-réducteur à répartition moins spécifique que l'ac. ascorbique.

mandée récemment par MANCEAU, POLICARD et FERRAND [55/56] elle peut cependant entraîner l'apparition d'autres corps réducteurs. C'est le cas dans les urines comme le remarquent ces mêmes auteurs. Et il en est de même ailleurs. KELLIE et ZILVA [46], puis VAN EEKELEN [15] ont mis en doute dans le sang l'acide ascorbique ainsi révélé: les résultats ne concordant pas avec ceux d'autres méthodes (spectrophotométrie). La méthode de GABBE [21, 22] n'en est qu'une variante.

Méthode au bleu de méthylène ou méthode de MARTINI BONSIGNORE. Il faut signaler maintenant la méthode de MARTINI et BONSIGNORE [57], qui vient récemment de subir une bonne mise au point par MENTZER et VIALARD-GOUDOU [61]. Elle repose sur le fait que lorsqu'on expose l'acide ascorbique à une lumière intense, son potentiel d'oxydo-réduction s'abaisse en particulier en présence de substances photodynamiques: c'est ainsi qu'une solution de bleu de méthylène, soumise à un rayonnement intense, est rapidement réduite et transformée en son leuco-dérivé en présence de l'acide ascorbique. En milieu acide cette réaction serait rigoureusement spécifique. (On extrait une quantité déterminée d'organes avec une certaine quantité d'acide trichloracétique à 8% et à 5 ccm de l'extrait clair, on ajoute 2 ccm d'une solution tampon constituée de la façon suivante: 15 g de citrate de sodium, 4 g de bicarbonate de sodium et eau, q. s. pour 100 ccm [pH 5—5,2], à laquelle on ajoute pour empêcher la réoxydation du colorant 1 ccm d'une solution d'hyposulfite à 5 pour 100.) Dans un deuxième tube on met, pour la comparaison, 5 ccm d'eau additionnée de 0,2 ccm de la solution de bleu de méthylène, à 1 : 10000. On commence par irradier le liquide à étudier, on y ajoute ensuite petit à petit la solution du colorant, jusqu'à l'égalité des colorations dans les deux tubes. La quantité de la solution de bleu versée, moins 0,2 ccm, représente celle de l'acide ascorbique existant dans la prise d'essai (NEUWEILER [70]. Elle a été utilisée en particulier par AMMON et HINSBERG [1], POLICARD et FERRAND [73]. Dans certains cas elle évite des erreurs que permet la méthode de TILLMANS: on peut admettre en tout cas une spécificité plus grande du fait du potentiel d'oxydo-réduction plus bas du réactif utilisé.

Méthode de BEZSSONOFF. Cette méthode est basée sur la réaction violette que donne le groupement diénolique en présence de l'acide monomolybdophosphotungstique (BEZSSONOFF, DELIRE et VAN WIEN) [5].

Sa spécificité est relative puisqu'elle est basée sur la réduction par le groupement diénolique. Elle peut donc se produire non seulement avec l'acide ascorbique mais avec le réductone, la rédoxine, l'acide dioxymaléique, l'acide lévuronique, le diénol etc. D'autres substances (EULER et BURSTRÖM) [7] encore peuvent déterminer des erreurs (scatol, acide urique) variables d'ailleurs selon la pureté du réactif.

Signalons ici la méthode peu spécifique de FUJITA, IWATAKE et MIYATA [20] critiquée par MANCEAU, POLICARD et FERRAND [56].

Il faut citer de plus la méthode de dosage du furfurol libéré par HCl bouillant aux dépens de l'acide ascorbique (ROE) [79] et la méthode à l'osazone de KOTAKE et NISHIGAKI [48].

Méthode spectrophotométrique. Il faut réserver une place à part aux techniques spectrophotométriques. Elles reposent sur l'existence d'un spectre d'absorption de l'acide ascorbique dans l'ultra-violet signalé par C. F. BOWDEN et C. SNOW, puis étudié par R. HERBERT HIRST, PERSIVAL qui donnèrent son coefficient d'extinction moléculaire (9500) et qui étudièrent à cet égard des substances voisines acétylpyruvique, l'acide deshydroxymaléique.

On peut constater que l'absorption ne suit la loi de Beer que pour de concentrations inférieures à $\frac{1}{20\,000}$ (D. DAVID, W. HAWORTH, R. HERBERT HIRST, SMITH et STACEY).

D'autres corps ayant une fonction analogue (la réductone, la rédoxine, l'acide dioxymaléique, l'acide lévuluronique possèdent aussi un spectre ultra-violet qui disparaît quand on oxyde la double liaison. Cette absorption se déplace avec le pH ainsi que Karrer et ses collaborateurs l'ont signalé pour l'acide ascorbique, von EULER et MARTIUS pour la réductone, WURMSER et LOUREIRO pour la rédoxine. Ce déplacement est surtout considérable pour l'acide ascorbique puisqu'il passe de 2650 Å en milieu neutre à 2410 Å en milieu acide [pH 4]. Pour la réductone le maximum passe respectivement de 2870 Å à 2680 Å et pour la rédoxine de 2800 à 2650 Å.

L'absorption par l'acide lévulique, le glucosone pourrait appeler une confusion, mais ils auraient un coefficient d'extinction mille fois plus faible; ce qui rend par suite cet alea sans grande importance.

Sur ces principes plusieurs tentatives de dosages ont été faites, sans effectuer des grandes purifications (VAN EEKELEN, EMMERIE, JOSEPHY et WOLFF, PLAUT, BÜLOW et PRUCKNER).

De LOUREIRO [53] a établi une bonne méthode de dosage. Elle comprend une série d'opérations. Désalbuminisation à l'acétone. Précipitation à l'acide phosphotungstique qui entraîne les flavines et les polypeptides. Précipitation par l'acétate mercurique et enfin réduction par H_2S .

L'examen spectrographique est fait selon la technique de VICTOR HENRI et WURMSER. Les mesures sont impossibles en milieu acide à (pH 1) l'absorption (2410 Å) se confondant avec les substances résiduelles. On opère en milieu neutre. L'absorption peut ainsi bien être mesurée (2650 à 2700 Å). On peut en soustraire l'absorption résiduelle après oxydation à l'iode. Il a appliqué cette méthode à l'étude de système nerveux.

A. CHEVALLIER et Y. CHORON [14] ont préconisé et utilisé une méthode de dosage spectrophotométrique par différence, qui et ne nécessiterait que de petites quantités de matière.

1 g de tissu préalablement pesé est broyé avec 6 g de SO_4Na_2 en présence d'alcool cyanuré saturé d' H_2S . (On fait passer bulle à bulle SH_2 dans 20 cc d'alcool absolu pH 5,5. On y ajoute ensuite 0 cc 4 d'une solution de CNK dans l'eau à $1/_{200}$). Après 30 minutes de séjour du mélange à 0°, on filtre. Une partie aliquote de filtrat: 2 ccm en général est évaporée sous azote à 60° environ. Le résidu repris par 10 ccm d'une solution de cyanure de K dans l'eau au $1/_{50000}$ donne une courbe d'absorption caractéristique dans l'U.V. de 2400 à 3000 Å (mesuré avec une cellule photo-électrique). Cette courbe présente un maximum ou seulement une inflexion à 2650 Å suivant la richesse du tissu en acide ascorbique.

On irradie ensuite la solution avec une source puissante d'ultraviolet (tube à hydrogène). La différence entre l'absorption primitive et l'absorption définitive permet de calculer la quantité de vitamine. Ils ont appliqué cette technique à la surrénale, au foie, au système nerveux et au sang.

Méthode diastasique. TAUBER, KLEINER et MISHKIND [86] ont créé une nouvelle méthode, qui devrait permettre la distinction entre l'acide ascorbique et d'autres substances réductrices. Ces auteurs ont extrait de *Cucurbita maxima* une oxydase qui serait spécifique de l'acide ascorbique. En dosant le pouvoir réducteur avant et après l'action de cette diastase on peut donc avoir la valeur réelle de la vitamine C (voir page 108).

Selon NEUWEILER [71] cette oxydase n'est pas absolument spécifique de l'acide ascorbique, elle oxyde également la cystéine et le glutathion mais plus lentement.

Il semble nécessaire de se méfier de certaines causes d'erreur (ETTORI et GRANGAUD) [19].

Contrôle par la carence. En dehors des méthodes de dosage proprement dites on peut faire appel à certains critères pour s'assurer que les taux observés dans les organes correspondent bien à la vitamine C. On sait en effet que chez le cobaye comme chez tout organisme qui ne synthétise pas l'acide ascorbique le taux est fonction de l'apport en vitamine C. La diminution du taux des substances réductrices ou leur relèvement (par rapport externe) permet ainsi de penser que le taux d'un organe donné correspond bien à l'acide ascorbique. Ce contrôle a été utilisé par un certain nombre d'auteurs HARRIS et RAY [36], et BESSEY et KING [3], MALMBERG et EULER [54], MELKA [59], KELLIE et ZILVA [46]. Nous l'avons nous-mêmes utilisé pour les tissus conjonctifs et musculaires.

Microméthode de GLICK.

GLICK [29 et 31] a adopté la méthode de microdosage de LINDSTRÖM-LANG et HOLTER [51] au dosage de l'acide ascorbique.

Appareillage. Eprouvettes à réaction (A figure 2) constituées par de petites tubes de verre de 2 cm de hauteur et de 250 mmm

portées sur un socle de bois. Pour assurer le mélange des substances dans ces tubes on emploie une puce, constituée par une sphérule de verre creuse et contenant de la poudre de fer. Cette puce est attirée alternativement par un électro-aimant placé au voisinage du tube.

Une pipette à main: une fine pipette fine calibrée avec tube de caoutchouc pour aspiration servant à mesurer 50 mmm.

Une microburette (fig. 1) composée d'un tube capillaire d'env. 60 cm de long, dont la capacité totale est de

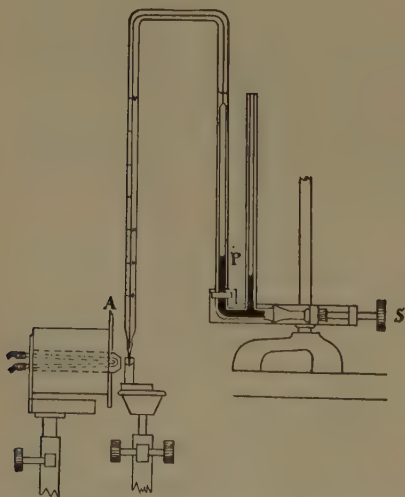


Fig. 1. Microburette de GLICK.

100 mmc. Elle est graduée en 0,2 mmc, mais les lectures peuvent être faites jusqu'à 0,02 mmc. En continuité avec le fond de la burette mais séparée par une chambre à air se trouve un réservoir à mercure fermé par une vis. Pour le remplissage, on tourne la vis tandis que l'extrémité de la burette est plongée dans la solution de dichlorophénol. En tournant la vis en sens inverse on fait monter le mercure qui par l'intermédiaire de l'air force le liquide à sortir.

La solution de dichlorophénol est préparée d'après BESSEY et KING [3].

Pour la titrer on met dans 50 mmc d'une solution d'acide acétique à 9% dans un tube à réaction quelques mmc d'une solution d'acide ascorbique. On fait couler le dichlorophénol dans cette solution avec la microburette. Le dosage est terminé lorsque la teinte obtenue est comparable à celle d'une solution de rose Bengal à 1 pour 1000000 placée dans un tube pareil.

Pour mesurer la solution d'acide ascorbique on utilise une micropipette. Celle-ci (fig. 2) est formée par un tube de verre étiré d'un coté en un tube capillaire dont l'extrémité est recourbée de façon à pouvoir toucher la paroi de l'éprouvette. A lorsque celle-ci est placée au-dessous de l'instrument. Un petit trait gravé à l'endroit correspondant marque la capacité de la pipette. L'éprouvette contenant le liquide à pipetter est placée sur une petite table que l'on peut hausser jusqu'à ce que l'extrémité de la pipette plonge au-dessous du niveau du liquide. On ferme alors le robinet H et, en ouvrant K, on aspire légèrement par le tube S jusqu'à ce que le liquide monte dans la pipette un peu au-dessus du trait, ce qui est observé avec le microscope M. Ensuite, on ferme K et au moment où le ménisque tombe exactement sur le trait, on abaisse rapidement la table pour séparer la pipette du liquide: la tension superficielle dans le tube capillaire est suffisante pour

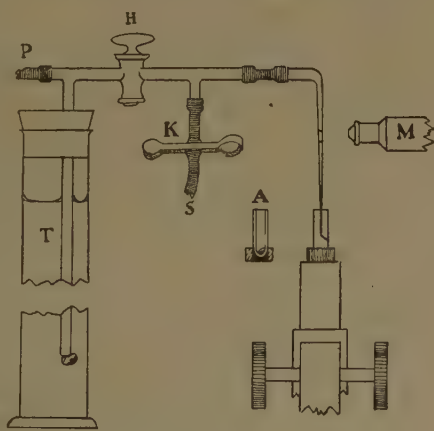


Fig. 2. Micropipette de GLICK.

empêcher le liquide de s'écouler. L'éprouvette devant recevoir le liquide est placée sur la table et haussée de façon à ce que l'extrémité de la pipette touche sa paroi près du fond: enfin, on ouvre le robinet H le liquide est chassé hors de la pipette par une pression constante déterminée par la hauteur de la colonne d'eau en T entre le niveau et l'extrémité ouverte du tube de verre.

Cette pipette sert à mesurer de très petites quantités de liquide (5 à 10 mm).

Technique. On introduit avec la pipette à main 50 mmc d'une solution aqueuse d'acide acétique à 9% dans une série de tubes à réaction et on y met une puce. On découpe à l'emporte-pièce dans l'organe congelé un cylindre de 4 mm, 5 de diamètre.

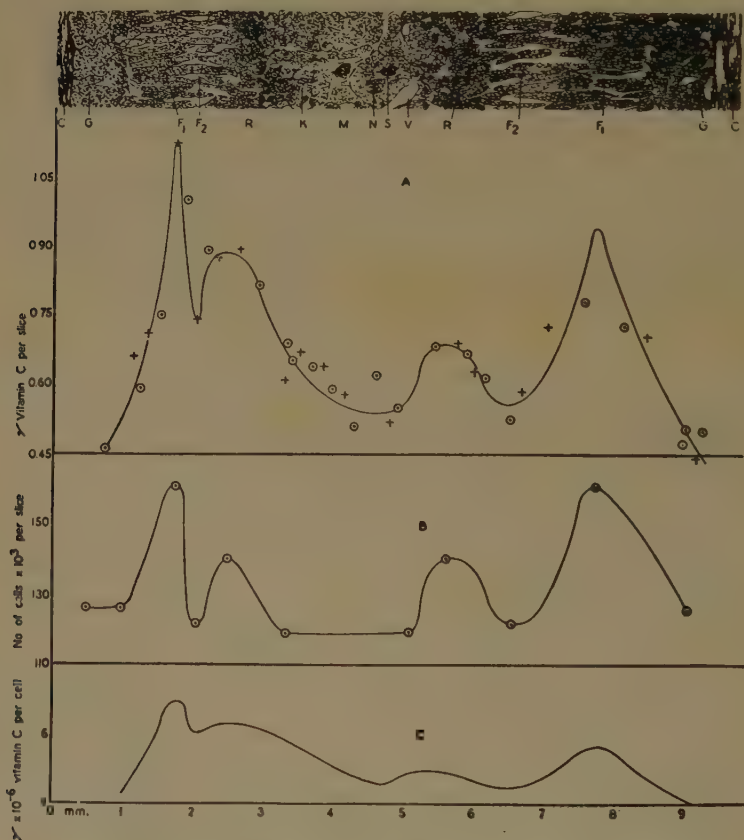


Fig. 3. Microdosage de la surrénale par GLICK et BISKIND.

On le débite en série en tranches uniformes de $40\ \mu$ ou de $20\ \mu$. On met soit une tranche de $40\ \mu$ soit 2 de $20\ \mu$ dans un tube à réaction (refroidi par un mélange réfrigérant) on le place au-dessous de la microburette et on met en marche l'électro-aimant. Le dosage est fini lorsque la coloration due au dichlorophénol correspond au témoin au rose Bengal.

On obtient ainsi la quantité d'acide ascorbique contenue dans chaque coupe successive.

Après une légère fixation, on monte les coupes dosées et on les colore: on identifie ainsi le type cellulaire, la zone d'un organe que l'on vient d'étudier. On obtient ainsi des courbes de titrations superposables aux différentes parties d'un organe. On peut compléter ces recherches en calculant le contenu de chaque type cellulaire (On fait ainsi abstraction du contenu des parties non cellulaires, ce qui ne paraît pas toujours sans inconvénient). Pour cela, il suffit, connaissant la quantité de vitamine contenue dans une région donnée de compter le nombre de cellules qui s'y trouvent. Cette numération s'effectue sur des coupes à paraffine; comme il se produit dans cette technique une rétraction de volume du tissu, il faut effectuer une correction. Pour obtenir le nombre de cellules dans une coupe fraîche d'après celui que l'on observe sur une coupe à la paraffine de même volume, il suffit de diviser le nombre trouvé par 1,73.

Méthode histochimique

SZENT-GYÖRGYI 1928 [84] avait vu qu'un tissu riche en acide ascorbique réduisait le nitrate d'argent et il avait noté que sur une tranche de surrénale le cortex devenait noir, tandis que la médullaire restait incolore. Cette épreuve macroscopique a été utilisée depuis maintes fois: GOUGH et ZILVA [32], MENTEN et KING [62], SIEHRS et MILLER [80], GALVAO et CARDOSO [23], Miss HARDE [34], MOURIQUAND et COEUR [68].

Histochimiquement les premiers essais ont été effectués par BOURNE 1933 [8, 9]. Cet auteur a utilisé de nombreuses techniques pour déceler la vitamine sous sa forme réduite ou oxydée après réduction par H_2S . Essentiellement il fixait aux vapeurs de formol et traitait ensuite au nitrate d'argent. A titre de contrôle il utilisait le chlorure d'or qui à un certain degré d'acidité n'est plus réduit par le formol comme pouvait l'être le nitrate d'argent. Tout à

fait indépendamment WESTERGAARD a pu, directement avec le nitrate d'argent [91] obtenir des résultats histochimiques.

GIROUD et LEBLOND 1934 ont mis au point une technique qui consiste essentiellement à mettre directement en contact le tissu avec un nitrate d'argent acidifié et par suite plus stable. Cette méthode est bien différente d'autres méthodes argentiques très utilisées en histologie ou en histochimie, qui comprennent toutes l'intervention d'un agent de réduction secondaire, soit physique, soit chimique: c'est le cas de toutes les imprégnations argentiques des tissus nerveux, conjonctifs et autres qui com-

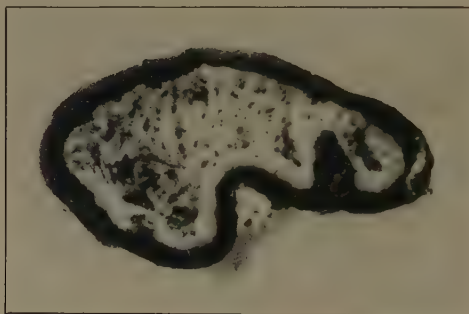


Fig. 4. Section transversale de surrénale après traitement par AgNO_3 (d'après SZENT-GYÖRGYI.).

portent toutes l'utilisation d'un réducteur secondaire. C'est aussi le cas des méthodes qui reposent sur une combinaison chimique entre le nitrate et le corps à étudier et qui nécessitent également l'utilisation consécutive d'un réducteur: méthodes de détection du calcium, des corps puriques, des chlorures. Elle se sépare aussi de la réaction argentaffine (MASSON, CORDIER, HAMPERL, CLARA) qui ne comporte pas de réduction secondaire, mais elle doit en être bien séparée, puisque celle-ci utilise un réactif l'hydroxyde d'argent très facilement réductible, qu'elle s'effectue lentement (12 à 48 heures) et qu'enfin elle est pratiquée après l'action de divers solvants.

Notre technique se distingue essentiellement par l'absence de tout réducteur surajouté; c'est l'acide ascorbique lui-même qui joue ce rôle. Elle est, de plus, caractérisée par le fait qu'elle est instantanée, qu'elle s'effectue à l'obscurité, qu'elle utilise un

réactif stable et au point de vue technique par le fait que le réactif est porté directement au contact même des cellules vivantes sans action préalable d'aucune substance.

Technique au nitrate d'argent acide. On peut utiliser comme réactif, divers sels d'argent : le nitrate semble le plus recommandable : pour le rendre plus spécifique, on l'utilise après acidification acétique. La formule la plus avantageuse est une solution de nitrate d'argent, acidifié par l'acide acétique, dont le pH est au voisinage de 3.

NO_3Ag	100 gr.
Acide acétique glacial	10 gr.
Eau distillée	1000 cc.

On peut utiliser des solutions moins riches en argent (1%) et aussi des solutions plus acides. Le nitrate d'argent sous cette forme agit comme fixateur et comme réactif. Au moment de la pénétration du réactif, les tissus deviennent blanchâtres (coagulation du protoplasme) ce n'est que quelques secondes plus tard que les tissus riches deviennent grisâtres, puis en cas noir-bleu par réduction métallique.

Le chlorure d'or peut donner des résultats superposables BOURNE [9, 10], TONUTTI et PLATE [89]. Ces derniers utilisent une solution de chlorure d'or à 1% additionnée avant l'emploi de 2 gouttes d'acide acétique, ils y font séjourner des morceaux de 2 à 3 mm pendant une demi-heure.

Mode opératoire. On tue l'animal par saignée en s'assurant de vider le plus complètement possible les vaisseaux de leur sang.

L'injection (pour la partie moyenne et inférieure de l'animal) s'effectue par l'aorte thoracique, en ligaturant fortement les vaisseaux sur la canule. Par ailleurs la circulation des liquides est assurée par l'ouverture du cœur droit dans des conditions telles que l'on puisse l'oblitérer pendant l'action du nitrate. On utilise pour les injections des seringues de verre de 50 cc. On utilise un embout et une aiguille boutonnée. Ces deux dernières pièces sont préalablement paraffinées. Pour chasser le sang résiduel, il faut laver les vaisseaux avec une solution isotonique. On doit utiliser une solution de fructose à 5%. Il faut injecter au moins 20 cc de cette solution pour un rat et 30 cc pour un cobaye. Au cours de ces opérations, comme au cours des suivantes, on doit éviter avec soin l'entrée des bulles d'air.

Il faut faire l'injection du nitrate immédiatement après le lavage des vaisseaux. Cette opération et les suivantes doivent être exécutées autant que possible à l'abri de la lumière. La dose totale de réactif à injecter varie naturellement avec le poids de l'animal: 80 à 100 cc pour un rat — 150 à 200 cc pour un cobaye. On injecte d'abord rapidement par voie artérielle une certaine quantité de nitrate d'argent, la voie veineuse restant ouverte (coeur droit ouvert antérieurement), puis après fermeture de cette dernière voie par une pince à forcipressure ou par une ligature à la base du coeur, on injecte le reste du nitrate pour assurer une réplétion sous pression du système vasculaire en évitant toute rupture.

La réaction est très rapide, aussi peut-on laisser le réactif pendant un temps très court. Au bout d'une minute, les résultats sont déjà satisfaisants. Mais il vaut mieux dans la pratique laisser le contact se prolonger pendant une dizaine de minutes. A l'abri de la lumière, cette durée n'a aucun inconvénient. Il n'en serait plus de même si l'action des rayons lumineux pouvaient intervenir. Les réductions d'ailleurs ainsi obtenues par réduction secondaires sont toutes différentes de coloration (jaune rougeâtre) d'abord et de localisation (tissus conjonctifs).

Malgré toutes les précautions, des territoires vasculaires peuvent ne pas être pénétrés par l'injection du fait de l'oblitération ou d'un spasme vasculaire. Aussi dans un tissu riche réagissant bien, on observe donc des territoires sans réactions, complètement blanchâtres par suite; et au contraire, on constate une forte accentuation des réactions des territoires voisins à leur contact.

Pour certains organes (rein, foie), l'injection par voie veineuse paraît plus favorable. On peut aussi utiliser la voie interstitielle en injectant dans la masse de l'organe. On injecte à l'obscurité et sans lavage préalable. On peut essayer de faire circuler le liquide en créant une issue artificielle. On attend 10 minutes, on découpe l'organe en tranches fines. On lave très soigneusement ces tranches dans l'eau distillée à l'obscurité.

On peut aussi se contenter d'une simple imprégnation superficielle, avec certains organes (hypophyse, ovaire et corps jaune) les résultats sont très bons.

La pièce est simplement mise dans une quantité assez grande de solution de nitrate d'argent et laissée une demi-heure à la température de la chambre. Il faut ensuite laver pendant trois

à quatre heures à l'eau distillée en changeant toutes les vingt minutes. Derniers temps comme dans la technique par injection. La face de la pièce au contact du vase est toujours mal imprégnée, c'est donc toujours la face libre superficielle qui sera utilisée pour les coupes. La pénétration n'est d'ailleurs qu'assez superficielle, 1 à 2 mm au plus.

Au bout de 10 à 15 minutes, on ouvre à nouveau la voie veineuse et on lave les vaisseaux avec de l'eau distillée; un lavage abondant est nécessaire (100 cc environ pour un rat), 150 cc pour un cobaye. Cette opération élimine une grande partie du nitrate d'argent. Ce temps bien que très important est en pratique mal réalisé; les conditions de circulation des liquides injectés étant très défectueuses.

Les organes sont alors découpés et lavés pendant un certain temps et plusieurs fois à l'eau distillée. On peut alors les mettre dans l'alcool 95%, si l'on désire les monter à la paraffine. On peut aussi à ce moment les couper directement à congélation; dans ce cas, il est facile de compléter la coloration de cette préparation par une coloration au scarlach effectuée comme d'habitude. On peut ainsi avoir les rapports avec les lipoides.

Pour le montage à la paraffine, on suit la technique habituelle. Mais l'élimination du nitrate d'argent par lavage de la pièce étant incomplète, il faut effectuer le plus possible toutes ces opérations à l'abri de la lumière.

Les coupes une fois faites sont collées sur lame et séchées à l'obscurité. Après déparaffinage, elles sont définitivement débarrassées des traces d'argent non métallique par passage à l'hypo-sulfite en solution saturée. On élimine ainsi les dernières possibilités de réduction tardive et de brunissement des préparations. Pour cela, les coupes sont mises successivement dans l'eau pendant 10 minutes, l'hypo-sulfite 20 minutes et l'eau courante 30 minutes.

Les préparations sont entièrement incolores à l'exception des points où le nitrate d'argent est réduit sous forme de granulations noires d'argent métallique.

On peut les surcolorer avec du bleu de méthylène dilué ou même avec l'hémalun de MAYER et un peu d'éosine. On monte dans le baume, suivant la technique courante. Les coupes ainsi terminées sont très stables.

Dans certain cas, il peut être utile de faire disparaître la réaction argentique. On traite alors la coupe déparaffinée par une

solution de permanganate de K, puis par l'acide oxalique, on lave et on colore. Les affinités colorantes normales sont assez modifiées, néanmoins, on peut utiliser comme test cette préparation.

Spécificité. Cette technique a été utilisée entre autres par BOURNE, DEMOLE, CAHEN et PFALTZ, PENNA DE AZEVEDO, TONUTTI et PLATE qui lui ont substituée le chlorure d'or. Il reste à savoir quelle est sa valeur. La spécificité du nitrate acide, sans

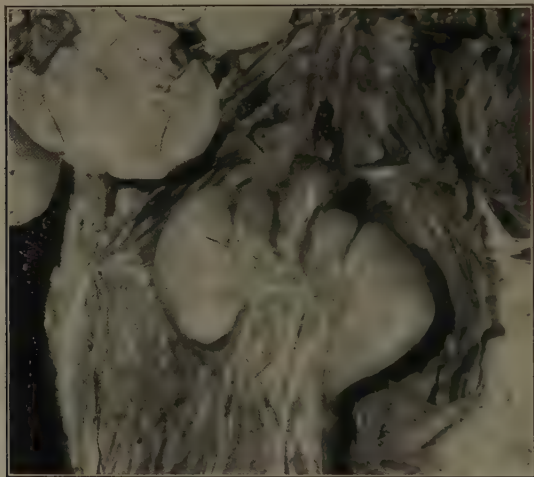


Fig. 5. Cobaye carencé injecté au nitrate d'argent acide. Les organes restent blancs. D'après GIROUD et LEBLOND (photo H. RAGOT).

être absolue, est néanmoins très grande à l'inverse d'autres réactifs argentiques.

L'oxyde d'argent ammoniacal est très instable: une grande quantité de substances sont capables de le réduire. Son instabilité en est telle que même en présence de substances inhibitrices (SH), la réduction continue (SVIRBELY). C'est ce réactif qui a servi à la recherche de l'adrénaline. (KUTSCHERA-AICHBERGEN, OGATA, BAGINSKI.)

La solution ordinaire de nitrate d'argent constitue déjà un réactif beaucoup plus difficilement réductible; mais le nitrate acide se révèle encore un réactif bien plus spécifique. L'adrénaline reste pratiquement sans action sur lui; tandis qu'au contraire l'acide ascorbique même à faible concentration le réduit énergiquement.

Il est facile de voir que dans l'organisme animal la réduction du nitrate acide dépend de la présence de l'acide ascorbique grâce aux animaux carençables tels que le cobaye dont on peut à volonté modifier le taux en acide ascorbique. Les réactions au nitrate d'argent sont positives sur tous les animaux normaux (animaux non carençables et carençables bien nourris) qui contiennent de l'acide ascorbique: elles sont toujours positives

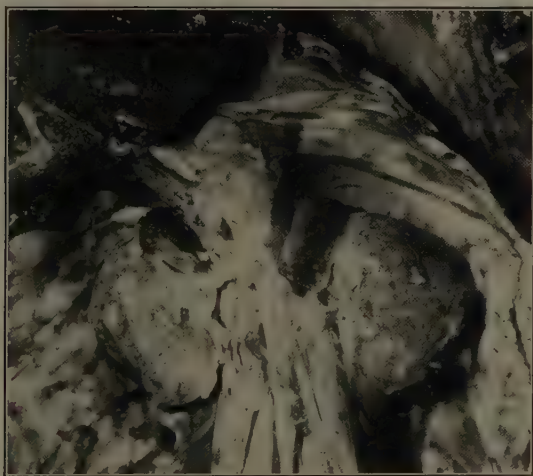


Fig. 6. Cobaye normal injecté au nitrate d'argent acide. La surrénale est noire bleue, le foie gris noirâtre, le rein grisâtre. D'après GROUD et LEBLOND (photo H. RAGOT).

dans les organes qui par ailleurs ont été démontrés riches. Elles sont positives dans les organes des cobayes normaux et elles sont intégralement superposables dans ses plus ultimes localisations à celles des animaux non carençables. Par contre, elles disparaissent progressivement et totalement chez les cobayes soumis à un régime privé de vitamine C¹). Or il est bien connu, depuis les recherches d'HARRIS et RAY [36] que les organes de ces animaux en carence ne présentent plus de vitamines biologi-

¹) Signalons par contre qu'au niveau des tissus dentaires en formation elles diminuent mais ne disparaissent pas complètement (DEMOLE, CAHEN et PFALTZ) et que selon BOURNE les réactions cytologiques diminueraient au fur et à mesure de la carence mais sans disparaître intégralement.

quement décelables et qu'ils n'en présentent plus que des traces par les méthodes chimiques. Par contre l'injection ou l'ingestion de jus de fruits ou d'acide ascorbique pur fait reparaître rapidement les réactions des organes chez ces mêmes animaux. La réduction du nitrate est donc bien liée chez l'animal carenable à la présence de l'acide ascorbique: et comme les réactions des animaux non carenables lui sont à tous égards, sauf leur stabilité entièrement superposables on est en droit d'envisager que partout il s'agit d'acide ascorbique.

L'apparition dans un tissu ou dans une cellule d'argent réduit, dans des conditions convenables, permet donc d'admettre la présence de l'acide ascorbique.

Cependant malgré sa grande spécificité ce réactif peut cependant se trouver réduit au niveau de certaines productions indépendamment de l'acide ascorbique. C'est ce qui se produit avec les granulations mélaniques ou du moins de certaines d'entre elles. La réduction du nitrate d'argent acide en argent métallique est positive au niveau des grains de mélanine des cellules épidermiques ou des cellules de LANGERHANS, mais elle ne se produit pas au niveau de ceux des mélanophores dermiques. Ce phénomène s'observe aisément sur le tissu frais, il disparaît sur les coupes à la paraffine. On aurait pu supposer qu'il s'agissait d'une réaction due à l'acide ascorbique adsorbé par le grain de mélanine. Mais cette hypothèse n'est cependant pas exacte: en effet l'extraction prolongée de l'acide ascorbique sur coupe à congélation, soit par l'eau, soit par l'alcool méthylique, n'empêche pas la réduction au niveau du pigment. De plus chez les cobayes en carence avancée la réaction demeure toujours positive. Cette réduction ne serait donc pas due à l'acide ascorbique, mais directement à la mélanine. Cette exception ne présente pas de conséquences au point de vue pratique puisqu'une fois prévenu, toute confusion est impossible.

Il semble qu'il faille faire aussi quelques réserves au sujet de réactions exceptionnelles au niveau des certains tissus et chez certaines espèces: glande parotide des équidés. La preuve par la carence ne pouvant être donnée, il y aurait lieu de confronter ces résultats avec l'ensemble des données des autres techniques. Chez les Invertébrés il est très possible que certaines réductions soient dues à d'autres substances, et malheureusement l'épreuve de la carence n'y est guère possible non plus.

II

L'ACIDE ASCORBIQUE DANS LA CELLULE ET LES TISSUS DES ANIMAUX

L'acide ascorbique dans la cellule.

A. ascorbique extra-cellulaire. L'a. ascorbique existe en dehors des cellules. L'ensemble des résultats acquis avec les divers modes de détection ou de dosage le prouve. Il existe dans tous les liquides de l'organisme: plasma (voir page 61), liquide céphalo-rachidien (voir page 67 et 85), humeur aqueuse (voir page 67). Il doit également exister dans les substances fondamentales: substances conjonctives, cartilagineuses ou autres. C'est ce qu'indiquent les réductions irrégulières, mais fréquentes (sous forme de petits grains d'argent) que l'on rencontre en elles, en dehors des cellules, avec les méthodes argentiques, et qui ont été signalées déjà par WESTERGAARD [190]. De plus, sa présence a été bien établie dans certaines formations acellulaires comme le corps vitré. Selon B. et O. NAKAMURA [147] l'a. ascorbique s'y trouve au taux de 1 mg. pour 100 gr. (lapin). Nous l'avons trouvé [73] au taux de 9,5 (boeuf), 13,8 (cheval).

Les faits chimiques concernant les tissus conjonctifs (voir page 71), ou névrogliques (voir page 50 et 66) sont aussi instructifs. Si l'on considère l'a. ascorbique comme localisé aux cellules, du fait du petit nombre de celles-ci, le taux doit être élevé et permettre des réactions histochimiques marquées, ce qui n'est pas le cas. Sa répartition doit donc s'étendre aux substances et aux espaces intercellulaires.

A. ascorbique cellulaire. Mais l'a. ascorbique existe surtout dans les cellules elles-mêmes¹⁾.

Sa présence se déduit d'abord de sa mise en évidence globale dans les tissus et tout particulièrement dans ceux qui, presque uniquement constitués de cellules juxtaposées comme par exemple le foie. D'après les données des dosages courants, on peut déduire directement le taux cellulaire dans tous les organes où le stroma et les substances fondamentales sont peu développées. On peut

¹⁾ Tous les chiffres donnés correspondent à 100 gr. de tissu.

ainsi admettre que dans les cellules des tissus riches, le taux varie entre 200 mg. et 100 mg. pour 100 grammes; dans les tissus intermédiaires, il est seulement de 20 mg., dans les tissus pauvres, enfin, il n'est que de 2 ou 3 mg.

Ce qui correspond respectivement à un rapport de: $\frac{1}{500}$ et $\frac{1}{1000}$ pour les premières, $\frac{1}{5000}$ pour les secondes et $\frac{1}{50\,000}$ pour les dernières.

GLICK grâce à sa microméthode (voir page 12) a calculé la teneur absolue de diverses cellules.

Teneur moyenne en vitamine C d'une cellule en γ

Lobe intermédiaire de l'hypophyse	4,6 $\times 10^{-6}$
Cortico-surrénale (boeuf)	3 $\times 10^{-6}$
Duodénum de vache région de glandes de BRÜNNER . . .	0,48 $\times 10^{-6}$
Tumeur ovarienne (femme) tissu parenchymateux	0,34 $\times 10^{-6}$

Localisation intracellulaire. Les méthodes histochimiques ont apporté des résultats intéressants. Après les premiers résultats de BOURNE [20], GIROUD et LEBLOND [62—73], LEBLOND [120], BOURNE [21—22], WESTERGAARD [190], DEMOLE, CAHEN et PFALTZ [34], en utilisant le nitrate d'argent acide, TONUTTI et PLATE [186], en utilisant le chlorure d'or, ont obtenu une série de documents sur l'a. ascorbique cellulaire.

Ces faits d'ailleurs n'étaient pas complètement inconnus. Le pouvoir réducteur sur le nitrate d'argent du cytoplasme et du chondriome avait été observé maintes fois, mais il n'en avait pas été donné d'interprétation. Ainsi RENAUT (1893) [172] avait déjà parlé d'une teinture d'argent dans laquelle n'intervenait aucune réduction secondaire, soit physique, soit chimique. Ces dernières années (1929), JOYET-LAVERGNE [108] signalait que le chondriome des cellules hépatiques et intestinales de *Rana temporaria* réduit le chlorure d'or à 1% et que l'on obtenait à peu près le même résultat avec le nitrate d'argent à 1%.

Les faits sont particulièrement nets avec les tissus riches. Dans les tissus où il n'y a que des quantités moyennes ou faibles d'acide ascorbique on peut constater quelquefois de légères réactions; en général, elles n'ont pas de localisation définie ni de constance réelle; BOURNE [20—22] en a signalé ainsi dans presque tous les tissus. Ces réactions sont dues à l'acide ascorbique puis-

qu'elles n'existent pas dans les tissus carencés; mais, elles sont accidentelles car elles se développent au voisinage de la limite de la sensibilité du réactif. Il n'en est pas de même pour les cellules riches; là, au contraire, les faits ont une constance et une stabilité manifeste.



Fig. 7. Cellules de la cortico-surrénale de rat: imprégnation du chondriome.

Dans ces cellules, le nitrate acide révèle la présence de l'acide ascorbique et, d'une façon générale, toujours sous le même aspect. La réaction est constamment négative au niveau du noyau et celui-ci apparaît toujours comme une tache claire vide au milieu de la cellule. On ne constate aucune coloration ni au niveau des nucléoles, ni en cas au niveau des chromosomes. Tous les auteurs s'accordent sur ce point (BOURNE, GIROUD et LEBLOND, LEBLOND, DEMOLE, CAHEN et PFALTZ, TONUTTI et PLATE).

Dans le protoplasma proprement dit, la réaction se présente normalement sous une forme granuleuse. Nous n'avons guère observé qu'une seule fois une réaction diffuse chez un animal en voie de carence. La réaction apparaît sous l'aspect de granules localisés et distribués d'une façon régulière. Dans certains cas, surtout sur les tissus examinés directement ou simplement coupés à congélation et non montés à la paraffine, ils sont en petits bâtonnets. Souvent ces granules sont arrondis ou à peine irréguliers. Leurs dimensions sont assez uniformes, elles oscillent entre $0,5 \mu$ et $1,5 \mu$.

Ces grains sont, selon les cas, plus ou moins grisâtres; souvent, ils sont franchement noirs. Dans certaines conditions, en particulier au voisinage des zones où le réactif n'a pas pénétré et où la réaction ne s'est pas développée, il se produit une accentuation de la réaction caractérisée par le noircissement plus intense des granulations et aussi par leur taille plus élevée.

Ils sont indépendants des enclaves cellulaires. BOURNE a décrit des granulations accolées aux gouttelettes lipidiques. Nous en avons vu accolées quelquefois à des grains de pigment dans la zone réticulée du cortex surrénalien. Toujours nous les avons vus séparées des gouttelettes lipidiques; il est très facile

de l'observer sur pièce imprégnée, coupée à congélation et colorée ou non par le Soudan (GIROUD et LEBLOND) (voir fig. 8).

Leur disposition correspond entièrement à celle du chondriome. La morphologie des granules, leurs dimensions, permet de penser qu'il s'agit bien en réalité de la coloration de ces organites (voir fig. 7, 8, 11). C'est aussi ce qu'admet BOURNE (1935) [21].

Dans certaines cellules, au contraire, les granulations argentiques sont juxtaposées et même plus ou moins soudées les unes aux autres en constituant un réseau situé à côté du noyau. Cette deuxième disposition correspond intégralement à celle de l'appareil réticulé de GOLGI (voir fig. 9).

Enfin, dans d'autres cellules, une disposition mixte se trouve réalisée. Il y a d'une part une mise en évidence de l'appareil de GOLGI, ou une réaction granulaire correspondant à la zone de GOLGI; et d'autre part il y a des granulations cytoplasmiques correspondant aux chondriosomes. En général, ces dernières sont de moins en moins colorées au fur et à mesure qu'elles s'éloignent de la zone de GOLGI (voir fig. 10 et fig. 13).

Tels sont les trois types de disposition que l'on observe et par suite les localisations de la réaction que nous révèlent les principales cellules riches de l'organisme.

Dans les cellules dont le taux en acide ascorbique est moins élevé, on peut observer, mais irrégulièrement, des réactions analogues en particulier au niveau de l'appareil de GOLGI, mais aussi au niveau de certaines enclaves (certaines cellules du revêtement intestinal) ou de grains de sécrétion (cellules de Paneth). Dans nombre de cellules pauvres, on peut voir comme dans le stroma conjonctif d'ailleurs, quelques rares granulations dont les rapports avec des éléments définis ne paraît pas établi. BOURNE, qui a décrit ces réactions dans de nombreux types cellulaires, pense qu'il s'agit de quelques chondriosomes isolés qui seuls seraient porteurs de vitamine C.

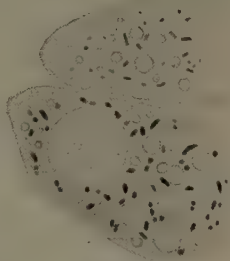


Fig. 8. Cellules cortico-surrénales de chien, nitrate d'argent, coupes à congélation. Indépendance des granulations argentiques par rapport aux gouttelettes lipidiques. Imprégnation du chondriome.

Forme oxydée et forme réduite. Il est évident que la méthode courante ne permet que la révélation de forme réduite de l'a. ascorbique. BOURNE (1935) [21] a cherché à mettre en évidence



Fig. 9. Cellules de la médullo-surrénale du rat: imprégnation de l'appareil de GOLGI.

non seulement cette forme, mais aussi la forme oxydée. Pour cela, il traitait pendant 10 à 15 minutes de petites pièces par H^2S qu'il éliminait ensuite par le vide et un courant d'azote (10 minutes). Il opérait alors comme d'habitude: une heure dans le nitrate d'argent, lavage, etc. . . .



Fig. 10. Cellules corticales de la surrénale du rat; imprégnation exceptionnelle de l'appareil de GOLGI et d'éléments du chondriome.

Dans ces conditions, il n'a observé que très peu de différences entre ces préparations avec réduction et les préparations normales. Il en conclue que la plus grande partie de la vitamine des cellules est sous forme réduite. Ces résultats correspondent aux données chimiques ob-

tenues par ailleurs. L'ensemble des recherches actuelles semblent indiquer comme on l'a vu (voir page 4) que la forme oxydée

ne doit représenter qu'un faible pourcentage de la forme réduite et que les chiffres plus notables tout au moins, que l'on a trouvés, peuvent résulter d'erreurs dues aux méthodes utilisées.

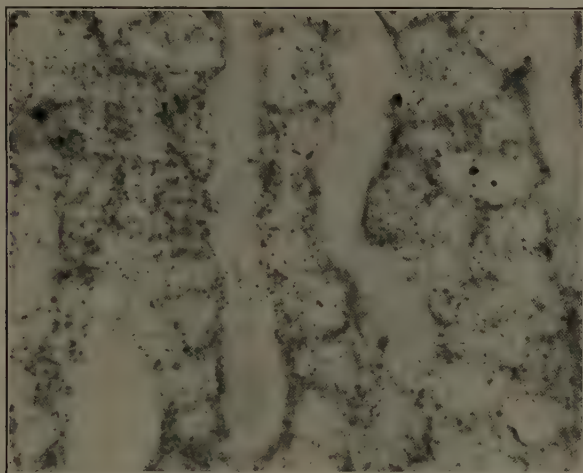


Fig. 11. Cortico-surrénale de rat au nitrate d'argent. Le chondriome est coloré en noir. D'après GIROUD et LEBLOND (photo H. RAGOT).

Spécificité des résultats histochimiques. Ces réactions dépendent indiscutablement de l'acide ascorbique comme on l'a montré antérieurement. Au cours de la carence, on voit les images histologiques s'atténuer et finalement disparaître¹⁾. Dans les éléments du cortex surrénalien, elles disparaissent vers le 9^{ème} jour, c'est-à-dire quand le taux est tombé au voisinage de 10 à 15 mg. pour 100 gr. Les cellules qui réagissent le plus tardivement sont les cellules de la réticulée. De plus, il est à remarquer que c'est dans les globules rouges pourtant très pauvres, que la réaction disparaît généralement, en dernier lieu. Finalement, il ne reste plus aucune réaction.

Selon BOURNE (1935) qui a également observé cette interdépendance, le nombre des granulations argentiques diminue d'abord, l'imprégnation des appareils de GOLGI disparaît ensuite, et enfin les granules cytoplasmiques disparaissent pratiquement bien que selon lui quelques-uns persistent jusqu'à la mort.

¹⁾ Il faut signaler qu'au niveau des tissus dentaires jeunes, DEMOLE, CAHEN et PFALTZ ont vu la réaction diminuer seulement mais non disparaître.

Hypothèse de la localisation de l'acide ascorbique. La limitation de la réaction aux organites cellulaires fondamentaux permet d'émettre l'hypothèse que l'acide ascorbique se trouve localisé au niveau de ces formations (GIROUD et LEBLOND [62], BOURNE 1935 [21]).

BOURNE va plus loin, en se basant sur les données de Brailsford Robertson pour qui la mitochondrie est constituée une phase externe pauvre en eau (phase lipoïde) et une phase interne

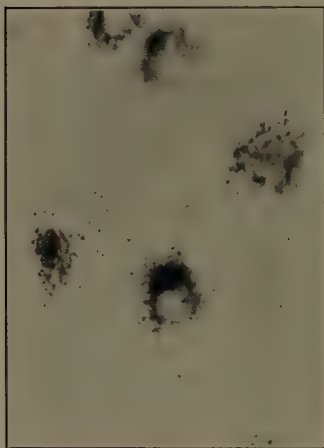


Fig. 12. Cellules lutéiniques.
Imprégnation du chondriome.
Photo H. RAGOT.

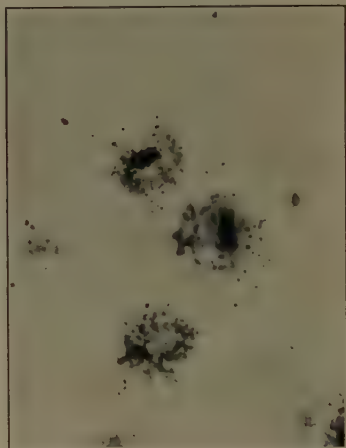


Fig. 13. Cellules lutéiniques. Im-
prégnation du chondriome et de l'ap-
pareil de GOLGI. Photo H. RAGOT.

riche en eau (phase aqueuse). Il envisage, par suite des affinités de l'acide ascorbique, que celui-ci se trouve localisé dans la phase aqueuse interne.

De plus, comme il ne constate dans bien des cellules (tissus à taux moyen ou faible) que quelques granules qu'il considère aussi comme des chondriosomes, il en conclut qu'il existerait deux types de chondriosomes: les uns avec acide ascorbique, les autres sans acide ascorbique.

On pourrait aussi en se basant sur le type fréquent de réaction superficielle des plastes chlorophylliens qui sont des chondriosomes d'un type particulier supposer sa localisation superficielle soit au niveau des chondriosomes, soit au niveau des dictyosomes (éléments de l'appareil de Golgi).

On peut se demander quelles sont les relations des molécules d'acide ascorbique et de l'organite: sont-elles à peine retenues ou fortement fixées?

GABBE [52—53] a montré que l'acide ascorbique pouvait être fortement adsorbé par certaines substances: en particulier par l'oxyhémoglobine. Ainsi s'expliqueraient certains faits et aussi les anomalies des dosages sanguins¹⁾.

On peut faire état ici d'autres notions sur le comportement global de l'a. ascorbique. On sait que l'acide ascorbique n'est stable qu'en apparence dans l'organisme. Sa stabilité apparente dans un tissu dépend d'un équilibre entre son apport ou sa synthèse et sa destruction ou son élimination (locale ou lointaine au niveau du rein).

DE CARO et GIANI [26—27] ont montré chimiquement que lorsqu'on introduit par voie intraveineuse de la vitamine C dans un cobaye carencé, les tissus (normalement riches), fixent l'acide ascorbique et se chargent de suite, mais ce n'est que temporaire; rapidement, ils perdent la vitamine ainsi accumulée. Le même fait peut se retrouver sur les cobayes non carencés (GIROUD, CHUC, RATSIMAMANGA et LEBLOND [74]). C'est également cette même perte que l'on observe dans la carence; c'est ce même gain, cette même fixation, que HOU [97] a constaté *in vitro* en mettant des tissus carencés en contact avec du sérum additionné de vitamine.

Histologiquement, les faits paraissent indiquer une certaine capacité de fixation de la part des organites cellulaires: mitochondries et appareil de GOLGI.

En mettant en contact un fragment de tissu avec du sérum pour assurer la diffusion de la vitamine, BOURNE (1933) [20] a vu, en effet, que les réactions diminuaient, mais ni très vite, ni très régulièrement.

D'autre part, on obtient les mêmes résultats histochimiques sur les pièces congelées dans lesquelles on peut envisager secondairement des phénomènes de diffusion que sur des pièces fraîches (GIROUD et LEBLOND [62—73], BOURNE [20—22]). Enfin, si l'on utilise préalablement au nitrate d'argent l'acétate de plomb pour éliminer les substances inhibitrices, on obtient encore malgré les temps nouveaux: acétate, lavage, des résultats analogues.

¹⁾ Rappelons que tout récemment REEDMANN E. J. et MACHENRY E. W. ont montré l'existence de combinaisons avec des protéines chez les plantes. *Biochem. J.* 32 (1938) 85.

Ces faits sont en faveur de la fixation relativement forte de la vitamine sur ces substrats si l'on admet une telle localisation.

Mais on peut envisager d'autres hypothèses. Il se pourrait que les granulations imprégnées aient des propriétés réductrices propres dont l'activité serait catalysée par l'acide ascorbique présent dans la cellule.

Il se pourrait aussi que la réduction argentique due à l'a. ascorbique s'amorce au niveau des organites cellulaires ou même de certaines inclusions sans que pour cela celui-ci y soit réellement localisé.

Substances protectrices (inhibitrices). La réaction résulte de la présence d'acide ascorbique, mais dépend aussi d'autres substances qui la freinent.

Le réactif ne donne pratiquement pas de réaction sur des cellules qui contiennent pourtant des proportions notables d'acide ascorbique, en tous cas beaucoup plus que celles qu'il peut déceler *in vitro* où l'épreuve est positive avec des solutions à 1/50000.

C'est sur ce fait d'ailleurs que se sont appuyés HARRIS et RAY [93] pour critiquer en général l'utilisation du nitrate d'argent. Ils faisaient en particulier remarquer que le tissu hépatique et le tissu médullo-surrénal bien que riches en acide ascorbique ne donnent pas de réaction (ce qui n'est pas entièrement exact comme on le verra).

Lorsque l'on étudie au cours de la carence avec ce réactif l'évolution de l'acide ascorbique des tissus en particulier au niveau de la surrénale, on observe des faits du même ordre. Au 6^e jour, d'après GALVAO et CARDOSO [54], la réduction du nitrate d'argent a disparu ou disparaît selon SIEHRS et MILLER [176]. Bien entendu, elle est complètement négative en pleine carence comme l'ont vu de nombreux auteurs et entre autres MOURIQUAND et ses élèves. Avec la méthode d'injection au nitrate d'argent acide, la réaction histologique disparaît du 7^o au 9^o jour. Cependant, à ce moment, il y a encore des quantités notables d'acide ascorbique, environ 15 mg. par 100 grammes de tissu frais.

La réaction est donc négative ou le devient alors qu'il y a de l'acide ascorbique en quantité suffisante: ceci suggère l'intervention d'autres facteurs.

La notion de substance inhibitrice pour la réduction du nitrate d'argent a été précisée par HUSZAK. Cependant, le fait

avait déjà été vu. HARRIS [93] et Miss HARDE avaient en effet constaté que l'addition de tissu hépatique à une solution d'acide ascorbique empêchait la réaction du nitrate d'argent.

Ayant observé par la méthode de Tillmans la richesse en acide ascorbique de la médullo-surrénale, HUSZAK [99] s'était demandé pourquoi ce tissu ne réduisait pas le nitrate d'argent. Il constata que l'extrait trichloracétique de ce tissu ne réduit pas non plus ce réactif et de plus que l'addition de cet extrait à une solution d'acide ascorbique empêche également la réaction. Par contre, après précipitation par l'acétate de plomb, la réaction apparaît. De ces faits, il avait conclu à la présence d'une substance inhibitrice.

On a pensé que des substances à fonction sulfhydryle pouvaient jouer un rôle important dans ces phénomènes d'inhibition. EMMERIE [39] a vu en effet que l'oxydation de l'acide ascorbique par le nitrate d'argent (acide) était considérablement ralentie par le glutathion. Il en serait de même pour l'oxydation par l'acide sélénique.

Il ajoute des quantités variables de glutathion à 2 ccm. d'un mélange constitué:

1 ccm. d'une solution contenant 1 mg. a. ascorbique
0,5 ccm. d'acide acétique à 10% et
0,5 ccm. de NO^3 Ag à 0,1 N.

	2 min.	15 min.	30 min.	1 heure
1 mg. ac. ascorbique sans glutathion	réduit	—	—	—
1 mg. ac. asc. + 0,1 mg. glut.	non réd.	très peu	peu	réduit
1 mg. ac. asc. + 0,25 de glut.	non réd.	non réd.	non réd.	peu
1 mg. ac. asc. + 0,5 glut. . .	non réd.	non réd.	non réd.	peu
1 mg. ac. asc. + 1 mg. glut. .	non réd.	non réd.	non réd.	peu

SVIRBELY [180—182] confirme le rôle inhibiteur du glutathion sur la réaction du nitrate d'argent ou du moins du nitrate d'argent acide et constate l'inactivité de l'adrénaline, du glycogène, du lactose, de la gélatine et de l'amidon.

TH. BERSIN, H. KÖSTER et J. H. JUSATZ [5] admettent également cette action inhibitrice du glutathion. L'explication de ce phénomène n'est pas donnée, l'hypothèse d'une combi-

naison de glutathion et de l'acide ascorbique a été émise mais n'a pu être démontrée.

Nous avons également eu l'occasion d'effectuer une série d'essais de la réaction au nitrate d'argent acide en présence de cystéine et de glutathion [73]. L'inhibition commence déjà à se manifester lorsqu'il y a une molécule de glutathion pour 20 molécules d'acide ascorbique, mais elle ne devient importante qu'avec une proportion de 1 pour 5. Ceci permet d'une part de supposer que des phénomènes d'inhibition puissent fréquemment jouer quand on réfléchit à la teneur relativement élevée en glutathion des divers tissus (voir page 38) et d'autre part, oblige à envisager dans bien des cas des processus d'activation pour expliquer des résultats positifs.

La réduction limitée à l'appareil de GOLGI ou aux éléments chondriosomiens voisins, au niveau de la médullosurrénale, dont le taux est considérable, s'explique par un phénomène d'inhibition. Le traitement préalable par l'acétate de plomb indiqué par HUSZAK nous a permis histochimiquement d'observer un accroissement et une extension de la coloration. BOURNE pense également que les résultats négatifs que l'on obtient en particulier au niveau de l'appareil de GOLGI pour être dus à l'action inhibitrice du glutathion dont il admet la localisation sur cet organe à l'instar des mitochondries.

Le pouvoir réducteur de l'acide ascorbique peut donc être inhibé vis-à-vis du nitrate d'argent: c'est un fait intéressant en lui-même mais de plus c'est un cas particulier de phénomènes beaucoup plus généraux. L'oxydation de l'acide ascorbique par de nombreux corps, y compris l'oxygène de l'air, dépend en effet de l'intervention d'autres substances. DE CARO et GIANI [26—27] ont montré que l'oxydation de l'acide ascorbique par l'oxygène atmosphérique se trouve diminuée plus ou moins considérablement par toute une série de substances. Ils ont constaté d'abord, et c'est ce qui est le plus important, le rôle fortement protecteur des broyages de tissus et de leurs extraits et spécialement de leurs extraits alcooliques. Il n'y a pas de très grandes différences entre les pouvoirs protecteurs des différents tissus d'un même animal et le pouvoir des tissus de l'animal carencé sont semblables à ceux de l'animal normal. Les filtrats obtenus par précipitation de ces extraits par les sels de Hg et de Pb possèdent les mêmes propriétés. Ayant cherché à analyser l'action de différentes

substances, ils ont constaté le pouvoir inhibiteur des sels minéraux, mais seulement à forte concentration. Parmi les substances organiques qu'ils ont essayées, ils ont constaté l'action inhibitrice de l'acide adénylique (sel de Na), et surtout celle du glutathion et de la cystéine (même de la cystine). Ils supposent que c'est à ces substances ainsi qu'aux sels minéraux (sauf naturellement les sels de fer, de cuivre qui catalysent l'oxydation) que serait dû le pouvoir inhibiteur des tissus. D'autre part, d'après leurs observations, le glucose, le fructose et le saccharose seraient sans action, il en serait pratiquement de même pour certains acides.

MAWSON [130] a constaté aussi le pouvoir empêchant des tissus normaux et tumoraux sur l'oxydation de l'acide ascorbique. Il a également observé le même pouvoir des extraits de ces tissus ainsi que de leurs dialysats.

Nous avons retrouvé ce pouvoir protecteur de certains constituants tissulaires; et il nous paraît possible que ce soit l'intervention de ces substances qui ralentisse l'altération de l'acide ascorbique après la mort. D'après nos dosages [71] au TILLMANS, la baisse, en effet, est environ de 10% au bout de 24 heures et ne dépasse guère 25% au bout de 48 heures. Selon MELKA [132], on n'observerait pas de variations dans le système nerveux pendant les 24 premières heures. MOURIQUAND et VIENNOIS [145] en utilisant la méthode de VAN EEKELÉN et EMMERIE [36] trouvent une baisse de plus de 25% en 24 heures; de 38% en 48 heures et de 58% en 76 heures.

Accélération des réactions. Nous avons vu que certaines substances frénent l'oxydation de l'acide ascorbique et par suite la réduction du nitrate d'argent. D'autres facteurs semblent au contraire l'accélérer. On peut d'abord citer la lumière que GALVAO et CARDOSO ont utilisé mais qu'il faut éviter. Par ailleurs, nous avons déjà signalé l'accentuation qui se produit au niveau des limites de pénétration du réactif soit sur un organe injecté ou simplement plongé dans une solution argentique. Des phénomènes analogues se produisent à la suite des injections vasculaires. Les parois vasculaires réduisent chez l'animal normal, et l'on observe toujours un dépôt d'argent à la face interne des vaisseaux.

Dans certains cas, autour de cette première réaction, s'en amorcent d'autres tout à fait anormales: ces réactions ne se produisent pas lorsque les pièces sont simplement plongées dans

le réactif; il n'y a pas d'amorce vasculaire. Une fois la réaction mise en marche, elle se continue de plus en plus facilement du fait de la présence du métal réduit dont l'effet catalytique est connu et même utilisé dans certaines techniques (germination). C'est probablement la cause de son exubérance que l'on peut facilement constater par exemple dans la cellule végétale autour des chloroplastes sous forme de végétations argentiques soudant les plastes entre eux. L'amorçage de la réaction est peut-être aussi l'explication des réactions paradoxales complètement inverses comme en a décrit F. WEBER dans la cellule végétale.

Le rôle d'un substrat paraît également fort important. Pratiquement, il n'y a jamais de réaction diffuse. Elle est toujours granulaire et elle paraît s'effectuer constamment sur un élément morphologique. Nous avons vu la localisation au chondriome, à l'appareil de GOLGI ou aux deux à la fois. Dans certains objets, elle peut s'effectuer sur les éléments les plus divers, soit sur ses organites fondamentaux (mitochondries ou appareil de GOLGI), soit aussi sur des grains de sécrétion ou enclaves. C'est le cas de la cellule intestinale, dont la réaction est inconstante et chez laquelle on peut trouver ces divers types de réaction (GIROUD, LEBLOND [64]). La coloration plus marquée (coloration et taille des granules) des cellules chromophiles de l'hypophyse dépend peut-être simplement du substrat granulaire offert. Leur réaction est variable; lorsqu'elle est très intense, celle des cellules chromophobes est de plus en plus faible; il semble qu'elles aient accaparé le réactif.

Il faut aussi signaler le rôle que peut jouer le milieu dans des phénomènes de diffusion du réactif et de son comportement. Dans les centres nerveux, on observe à une certaine distance du vaisseau injecté une zone de réduction sans aucune localisation morphologique; qui évoque l'idée d'un début de phénomène de précipitation périodique.

D'ailleurs, la nécessité d'activateurs semble s'imposer. C'est ce qui résulte d'abord de la présence de substances inhibitrices (glutathion) à des taux souvent assez importants pour empêcher la réaction comme il résulte des essais *in vitro* de EMMERIE [39] et de nous-mêmes [73] dans des tissus qui réduisent quand même le nitrate d'argent: Ainsi, par exemple, la proportion de glutathion dans le cortex surrénal lui-même est tel que, s'il agissait *in vivo* comme *in vitro*, la réduction du nitrate n'aurait pas

lieu. Ce déclenchement de la réaction qui se produit, doit donc résulter ou d'une limitation d'action des inhibiteurs ou alors directement d'une action accélératrice.

Cette nécessité d'accélérateurs résulte peut-être aussi de la stabilité même du nitrate acide comme nous l'avons vu nous-mêmes et comme SVIRBELY l'a observé également.

Relations de l'acide ascorbique avec le glutathion et la vitamine A. Si l'on admet la localisation élective aux organites cellulaires, et c'est l'hypothèse la plus vraisemblable, il y a lieu d'envisager des relations possibles avec d'autres éléments qui seraient présents dans ces organites. La constitution complexe des chondriosomes et des dictyosomes (lépidosomes de PARAT), paraît maintenant bien établi; ce sont des complexes lipo-protéïques. La présence du constituant lipidique REGAUD, FAURÉ-FRÉMIET, MAYER et SCHAEFFER [48], MULON, CIACCIO, RUBASCHKIN, GUILLIERMOND, comme celle du constituant protéïque, (BERG, NOEL, COWDRY, GIROUD) [56—57] a été bien établi dans les chondriosomes. Cette même constitution a été aussi reconnue pour les dictyosomes ou les lépidosomes: KARPOVA, PARAT [158]. De plus, la présence d'autres éléments importants a été signalée. Récemment, JOYET-LAVERGNE [111] a admis l'existence générale du glutathion au niveau des chondriosomes. BOURNE [20—22] partage cette opinion et croit que ce glutathion existe dans la partie centrale aqueuse de l'organite avec l'enzyme protéolytique de MARSTON. Par contre, PARAT [158] n'a pas pu observer directement avec le nitroprussiate de réaction localisée. Il est possible, contrairement à ce que nous avons aussi admis nous-mêmes au début, que ce que l'on observe généralement ne soit pas du glutathion, c'est-à-dire des SH solubles, mais simplement des SH fixes appartenant aux protéïdes chondriosomiens, car le plus souvent, les techniques utilisées (traitement antérieur par des solutions d'acide trichloracétique, d'acide acétique, de cyanure, etc.) rendent vraisemblables la disparition du glutathion.

Les données chimiques par contre sont assez importantes.

Depuis longtemps, on avait remarqué une superposition entre la répartition de l'acide ascorbique et le glutathion, superposition d'ailleurs exagérée souvent par le fait que les dosages du glutathion confondaient ces deux réducteurs.

Parmi les faits les plus suggestifs, il faut en particulier signaler leur relation commune avec l'activité vitale: leur apparition

simultanée au cours de la germination de la graine (FIRKET et COMHAIRE [50], voir page 39), leur disparition au cours de certaines altérations (cataracte du cristallin, voir page 86), dans la nécrose (BIERICH et ROSENBOHM [11]), dans la kératinisation (GIROUD et BULLIARD [65], GIROUD, LEBLOND, RATSIMAMANGA et RABINOWICZ [69]). BIRCH et DANN [15], qui l'avaient noté, pensaient que ces deux éléments devaient être réunis en un même système d'oxydation.

Il y a par contre certaines dissociations: c'est ainsi que l'existence du glutathion paraît universelle chez les êtres vivants: tandis que celle de l'acide ascorbique ne l'est pas. Il existe, entre autres, chez les levures et les champignons qui n'ont pas d'acide ascorbique.

D'autre part, alors que ce dernier se trouve dans les cellules et hors des cellules, le glutathion serait plutôt localisé à la cellule elle-même.

En tout cas, on n'en trouverait point, selon BINET et WELLER [14], dans les substances conjonctives et cartilagineuses, ni dans le corps vitré, ni dans le plasma, ni dans le liquide céphalo-rachidien, ni dans l'humeur aqueuse. On ne le trouve pas davantage dans les sécrétions (bile, lait, urine normale) que dans les liquides pleuraux, les liquides d'ascites, d'œdèmes, ou d'hydrothorax.

Voici un tableau où se trouvent comparés le taux chez le chien de l'acide, ascorbique et celui du glutathion. Les chiffres pour ce dernier sont empruntés à BINET et WELLER [14] (Méthode par précipitation au lactate de cadmium).

On voit que la répartition de l'acide ascorbique est beaucoup moins uniforme que celle du glutathion.

Organes du chien	Acide ascorbique en mg. pour 100 grammes	Glutathion réduit en mg. pour 100 grammes
Surrénale	128	111,68
Foie	27	171,13
Pancréas	4,6	125,26
Thyroïde	11	88,13
Rate	20,5	120,02
Cœur	3,8	76,60
Muscle	1,1	37,15
Sang	0,32	23,9

A titre documentaire, nous joignons ici un tableau montrant la distribution comparée de l'acide ascorbique et du flavine-ferment: les chiffres de flavine sont empruntés à un travail de GOUREVITCH [88].

Tissu	Animal	Acide ascorbique en mg. par gramme	Flavine par gramme en γ	Auteurs
Cerveau	bœuf	0,16	1—5	1
Subst. grise	mouton	0,15 (bœuf)	2,2	2
Subst. blanche	mouton	0,101 (bœuf)	1	2
Rétine	bœuf	0,20	1	3
Hypophyse ant.	bœuf	1,61	0,5—1	1
Hypophyse post.	bœuf	0,6	0,025—0,50	1
Surrénale	bœuf	1,3	5 à 10	1
Corps jaune	vache	1,14	5 à 10	1
Foie	bœuf	0,29	10 à 20	divers
Rein	bœuf	0,11	10—20	1
Sang	bœuf	0,002	moins de 0,025	1
Rate	bœuf	0,28	2,4	2
Poumon	bœuf	0,18	1,6	2
Placenta	femme	0,18	0,5—1	1
Cœur	lapin	0,04	7,6	2
Muscle	chien	—	2,8—3,1	2

1. EULER et ADLER, 2. GOUREVITCH, 3. EULER, HELLSTROEM et ADLER et 4. KUHN, KALTSCHMITT et WAGNER-JAUREGG.

Les relations avec la vitamine A doivent être aussi envisagées.

En utilisant le réactif de CARR-PRICE (trichlorure d'antimoine en solution chloroformique), JOYET-LAVERGNE [108] a obtenu la coloration en bleu des chondriosomes. C'est aussi ce qu'observe BOURNE [20—22]. Ces auteurs en concluent à la présence de vitamine A dans les éléments du chondriome. JOYET-LAVERGNE suppose que le glutathion constitue avec elle un système d'oxydo-réduction. BOURNE envisage au contraire que le glutathion forme un système avec l'acide ascorbique. Vu l'importance de la question, il serait bon que certaines épreuves de contrôle fussent largement effectuées (carences en particulier). On peut se demander si, avec ce réactif de CARR-PRICE dont la

spécificité n'est pas absolue, toute coloration obtenue peut être attribuée à la vitamine A ou même à un caroténoïde. A cet égard, les observations de CHEVALLIER et CHORON [28] révèlent des objets extrêmement favorables pour ces recherches, puisque dans la cellule hépatique de divers types de cobayes on peut trouver des variations de taux allant de 5—10 à 300.

L'a. ascorbique dans les tissus

Epithéliums de revêtement

Epiderme. GIROUD, LEBLOND, RATSIMAMANGA et RABINOWICZ [69] ont constaté la présence de l'acide ascorbique au niveau du tégument et en ont étudié la répartition et le comportement (carence).

La peau totale, d'après ces auteurs donne les chiffres suivants au TILLMANS pour 100 gr. de tissus¹⁾

cobayes normaux	cheval
plante de pied 8 mg.	peau de la queue . . . 2 mg 7
peau du dos. 5 mg.	

On pouvait se demander si ces valeurs correspondent bien à l'acide ascorbique; en effet, KALNINS [112] n'aurait pas pu en donner la preuve biologique chez le rat. Il le semble bien cependant puisque pour la carence ces valeurs s'effondrent presque complètement (dichlorophénol)

cobayes carencés	A	B
plante du pied	0,008	0,000
peau du dos	0,008	0,000

Ils ont cherché à préciser la localisation de la vitamine dans les différentes parties du tégument et en particulier dans les constituants de l'épiderme en s'adressant à plusieurs objets favorables

¹⁾ Tous les chiffres donnés correspondent à 100 grammes de tissus sauf pour le sang, le liquide céphalo-rachidien, le lait et l'urine.

chez lesquels le corps muqueux et la couche cornée sont très épais.

	corps muqueux	couche cornée	derme
châtaigne du cheval	11	1	3
sabot de porc	7,9	1	—
corne du bœuf	6,2	0	—

Le corps muqueux contient donc une quantité appréciable de vitamine. La couche cornée n'en renferme que des traces ou même en est dépourvue. Le derme est beaucoup plus pauvre.

Les peaux pigmentées ne sont ni plus pauvres ni plus riches que les peaux non pigmentées (cheval, cobaye). Le tissu pigmentaire lui-même est assez riche en vitamine C (environ 10 mg. pour les nodules mélaniques du cheval). Ce fait est intéressant car la présence de l'acide ascorbique dans une cellule n'empêche pas sa pigmentation: ce qui indique que l'action antipigmentaire de l'acide ascorbique en particulier contre la pigmentation de la maladie d'Addison selon SZENT-GYÖRGYI n'est pas due à un processus local, mais à une action à distance comme le supposent JADASSOHN et SCHAAF [102].

Epithéliums de revêtement interne. Epithéliums simples. Pour les épithéliums des revêtements internes il n'existe pas de document qui leur sont propres. Cependant on peut déduire certaines notions des dosages concernant les muqueuses.

Ces muqueuses en particulier l'intestinale comprend en même temps en dehors du chorion des glandes de LIEBERKÜHN, mais les cellules qui constituent ces dernières ont essentiellement la même structure que celles de l'épithélium du revêtement intestinal. Or cette muqueuse contient une quantité appréciable d'acide ascorbique. C'est ce que pouvait faire prévoir les dosages de ZILVA et de JACOBSEN [196, 100—101], ce que montrent les microdosages de GLICK et BISKIND [82] de COLLAZO et de SANTOS RUIZ [33] sur le duodénum et le jéjunum de la vache (20 à 25 mg.) et aux nôtres après simple dissection.

On constate également que le taux de la muqueuse intestinale est plus élevé que celui des autres organes du tube digestif.

	muqueuse
intestin grêle	19
gros intestin	6,3
estomac	2,3

Ce taux ne correspond pas uniquement à l'absorption digestive de l'acide ascorbique. Il s'élève en effet à la suite de l'injection parentérale de vitamine (ZILVA et JACOBSEN) [196, 100—101]. Ces faits semblent indiquer une concentration en rapport avec la fonction de la cellule (digestion ou resynthèse).

Tissus glandulaires

Le tissu glandulaire est un des tissus les plus importants de l'organisme, mais souvent il est tellement incorporé dans la constitution des organes que nous serons obligés de le traiter comme tel. Ce sera le cas des tissus glandulaires qui constituent les glandes à sécrétion interne.

Tissus glandulaires exocrines

Foie. Les tissus glandulaires exocrines nous retiendront d'abord en commençant par les glandes annexées à l'appareil digestif.

Le tissu hépatique dont le pouvoir antiscorbutique est connu depuis longtemps (PARSONS [159], LEPKOWSKY et NELSON) [122] contient des quantités très appréciables d'acide ascorbique.

SVIRBELY [180] chez un certain nombre d'animaux a trouvé des chiffres allant de 11 mg. (lapin) à 45 mg. (souris) avec la méthode de TILLMANS. BESSEY et KING [6] observent des valeurs oscillant entre 10 et 40.

TAUBER et KLEINER [184] ne trouvent que 10 mg. tandis que dans toute une série d'espèces diverses nous avons vu le taux osciller entre 16 mg. et 43 mg. avec une moyenne de 26 mg. 56.

Chez une même espèce (boeuf) nous avons constaté des oscillations entre 19,3 et 34,6 autour d'une moyenne de 26,4 mg. [76].

Chez l'homme, les chiffres sont très variables: JAWORSKY, ALMADEN et KING [104] donnent 11 mg. 2 en ne comptant pas les individus au dessous de un an, LOEPER, CHABROL, COTTET et LESURE [124] ont obtenu en moyenne 15 mg.

Récemment, CHEVALLIER et CHORON [30] ont reconnu la présence de l'acide ascorbique chez le cobaye par leur méthode spectrographique; chez des animaux soumis à un régime assez riche ils trouvent de 6 à 10 mg.

Le taux du foie varie très nettement avec l'alimentation. Il varie aussi avec d'autres facteurs et plus particulièrement avec l'âge.

Glandes salivaires. Les glandes salivaires ont été peu étudiées. On sait que leur nature est différente; les unes sont séreuses, les autres muqueuses, certaines sont mixtes.

Voici les chiffres que nous avons obtenus par la méthode de TILLMANS chez diverses espèces animales.

	sublinguale	sous maxillaire	parotide
chien	13 mg. 7	9 mg.	5 mg.
mouton	13 mg. 2	3 mg.	6 mg.
bœuf	—	6 mg.	8 mg.
chèvre.	19 mg.	9 mg.	6 mg.
cobaye normal. . .	—	17 mg. 1	—
cheval	15 mg.	15 mg.	110 mg.
mulet	—	—	123 mg.
âne	—	19 mg.	83 mg. 2

Ces valeurs sont relativement peu élevées sauf chez les équidés. Il s'agit là d'un fait tout à fait exceptionnel. Alors que normalement toutes les valeurs d'un même organe restent voisines d'une espèce à une autre on constate ici une discordance complète. Ce fait pourrait inciter à croire que ces valeurs ne représenteraient pas de l'acide ascorbique. Il faut cependant noter en particulier, à l'encontre de cette hypothèse, que l'on constate avec ce tissu une charge des organes du cobaye et que l'on observe une activité antiscorbutique correspondant aux prévisions. D'autre part avec le bleu de méthylène on obtient des résultats analogues. S'il ne s'agit pas d'acide ascorbique, il s'agit peut-être d'une substance voisine et fonctionnellement comparable.

Pancréas: Le pancréas a une constitution complexe. L'isolement des îlots n'a pas été effectué et des dosages comparés sur la tête et la queue (où les îlots sont plus nombreux) ne nous ont pas montré de différences évidentes. TAUBER et KLEINER

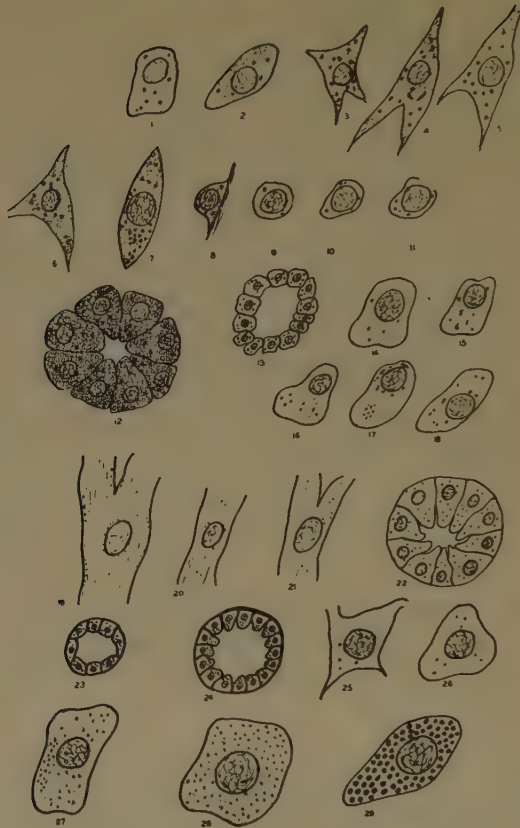


Fig. 14. Cellules diverses (nitrate d'argent acide)
d'après BOURNE.

1. Cellule acineuse du pancréas.
2. Cellule des îlots de LANGERHANS.
- 3—7. Cellule de la pulpe splénique.
- 8 — 11. Lymphocytes.
12. Cellule de la glande sous-maxillaire; avec des granulations de vitamine C au niveau du pôle de sécretion.
13. Cellules de la région glandulaire cardiaque de l'estomac.
- 14—18. Cellule de la région cardiaque de l'estomac.
- 19—21. Cellules myocardiaques.
22. Tube collecteur rénal.
23. Anse descendante de HENLE.
24. Anse ascendante de HENLE.
- 25—27. Cellule de la région glomérulaire rénale.
28. Cellule hépatique.
29. Cellule endothéliale de capillaire de la moelle osseuse.

ont trouvé chez le lapin 20 mg.; MENDIVE et DEULOFEU 17 à 27 mg. chez le bœuf.

Nous avons trouvé chez le chien 5, chez le mouton 4,5, le bœuf 9, la chèvre 19,2, le cobaye normal 22,3, le cheval 25, le mulet 24,7, l'âne 13,6.

Glandes diverses. Les glandes intramurales du tube digestif n'ont pas été dosées isolément sauf celles du duodénum

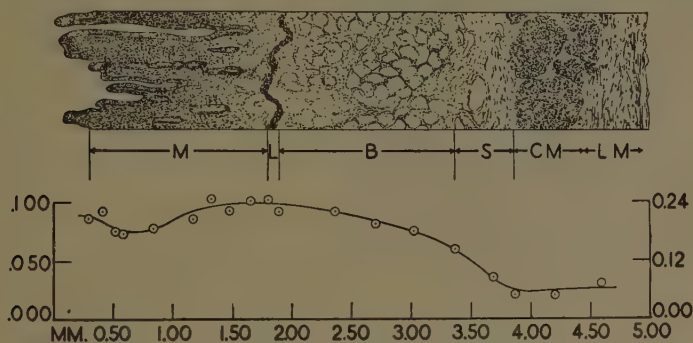


Fig. 15. Microdosage de GLICK et BISKIND au niveau du duodénum. En ordonnées à droite mg. de vit. C par gr.; à gauche microgrammes par coupe.

grâce aux dosages en série de GLICK et BISKIND. Ils donnent pour la glande de BRÜNNER le chiffre de 20 à 24 mg. comme pour la muqueuse elle-même.

Les glandes annexées au tégument sont très différentes. Les glandes sudoripares doivent participer à la constitution du taux du derme, mais d'elles-mêmes, nous ne savons rien.

La mamelle que les études morphologiques rapprochent des glandes sudoripares, ne présente qu'un taux peu élevé: 4 mg. 2 à 6 mg. (vache).

Les glandes sébacées ont pu être dosées (glandes MEIBOMIUS). Le taux oscille entre 15 et 20 mg. chez le bœuf.

La glande lacrymale présente un taux de 11 mg 3 (chez le bœuf).

Les glandes annexées au tractus génital méritent aussi d'être signalées. Voici quelques chiffres de glandes annexes du tractus génital.

La prostate n'est pas très riche. Elle renferme 20 mg. chez le taureau, 11 mg. chez l'étalon.

La glande de Cowper ou glande bulbo-urétrale contient chez le taureau 10 mg. La vésicule séminale (muqueuse) contient 16 mg. (taureau), 14 mg. (cheval). L'ampoule déférentielle (muqueuse) a un taux analogue 16 mg. (cheval).

Tissu excréteur. Le tissu excréteur n'est pas un tissu riche, mais son rôle dans l'évolution de l'acide ascorbique est assez important surtout chez les organismes carençables.

Rein. Sa teneur propre (c'est avant tout un organe de passage pour la vitamine C), en dehors de l'activité sécrétrice expérimentale, est relativement faible.

WOLFF, VAN EEKELEN et EMMERIE ont trouvé dans les reins en général un chiffre moyen 9 mg. chez le rat, KALNINS a obtenu 10 mg. tandis que TAUBER et KLEINER n'ont constaté que 6 mg. chez le lapin.

Le cortex ne se comporte pas toujours exactement comme la partie médullaire.

	total	cortex	médullaire
cheval	11 mg.	8 mg.	9 mg.
bœuf	11 mg.	11 mg.	8 mg.

Le taux du rein varie d'une façon considérable en fonction de la circulation de l'acide ascorbique dans l'organisme. Il s'élève nettement du fait de l'apport alimentaire. L'introduction expérimentale massive, par voie intraveineuse fait augmenter énormément (10 fois plus) la teneur du rein comme l'ont vu de nombreux auteurs (de CARO, ROHMER, BEZSSONOFF, STOERR et PERRIER) [8], GIROUD, LEBLOND, RATSIMAMANGA et CHUC [74]. Dans ces conditions, on peut constater facilement histochimiquement (GIROUD et LEBLOND [62] la présence de l'acide ascorbique. Il est strictement localisé aux cellules des tubes à bordure en brosse; on n'en trouve pas de trace dans les autres segments du tube urinaire. Cette présence correspond vraisemblablement à un phénomène de résorption. LEBLOND [120] a pu constater en effet chez la grenouille que l'acide ascorbique passe d'une part au niveau du glomérule et d'autre part qu'après suppression de l'activité glomérulaire par ligature des artères glomérulaires, seule la circulation vasculaire des tubes restant assurée, l'urine éliminée ne contient plus d'acide ascorbique: ce qui indique que l'acide

ascorbique n'est pas secrétée au niveau des tubes mais bien au niveau du glomérule (voir fig. 16).

Tissu pulmonaire. Au tissu glandulaire, on peut rattacher le tissu pulmonaire JAWORSKY, ALMADEN et KING [104] ont trouvé 5 mg. 5 en moyenne dans le poumon humain (audessus de 1 an jusqu'à la vieillesse). Cette valeur est plus élevée chez le jeune et à fortiori, chez le fœtus (28 mg.). Le poumon contient 18 mg. chez le boeuf et 17 mg. chez le cheval.

Glandes endocrines

Hypophyse. L'hypophyse est une des glandes les plus riches de l'organisme, un de ses éléments est même le plus riche de tous. GOUGH et ZILVA [87] ont reconnu les premiers, par différentes méthodes, la présence de l'acide ascorbique au niveau de l'hypophyse: d'après eux, le pouvoir antiscorbutique de cette glande

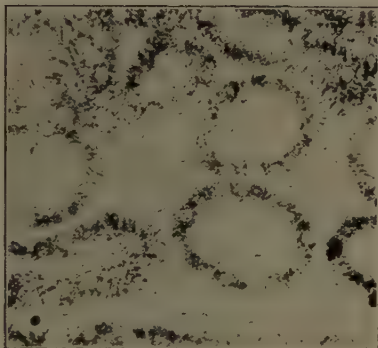


Fig. 16. Rein de cobaye ayant reçu 50 milligrammes d'acide ascorbique par voie intraveineuse. Réaction au nitrate d'argent localisée aux tubes à bordure en brosse. D'après GIROUD, LEBLOND, RATSIMAMANGA.

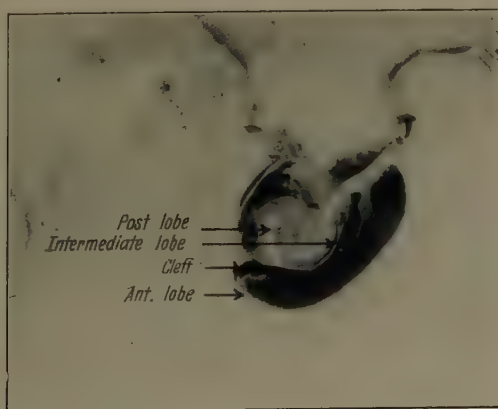


Fig. 17. Hypophyse de chien, traitée 15 minutes par AgNO_3 à 0,4% (d'après GOUGH et ZILVA).

serait le double de celui de la surrénale. La teneur de l'hypophyse globale est voisine de 126 mg. (bœuf) et de 136 mg. (cheval), de 143 mg. (mulet), 127 mg. (chat) pour 100 grammes. Chez le cobaye normal on trouve environ 135 mg.

Les diverses parties de l'hypophyse se comportent très différemment; c'est ce qui ressort des premières observations macroscopiques de GOUGH et ZILVA avec le nitrate d'argent où le lobe postérieur apparaissait bien plus pauvre que les lobes

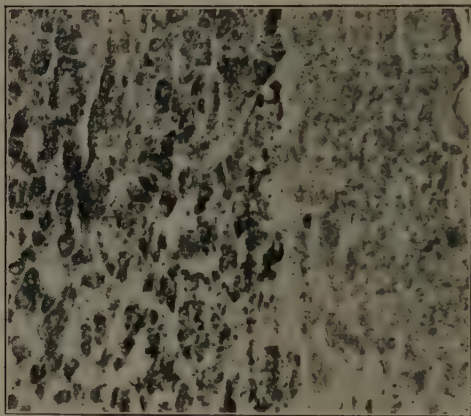


Fig. 18. Hypophyse de boeuf au nitrate d'argent. A droite le lobe intermédiaire, à gauche le lobe antérieur d'après GIROUD et LEBLOND.

glandulaires. MENDIVE et DEULOFEU [133] donnent 160—110 mg. pour le lobe antérieur et 120—90 mg. pour le lobe postérieur.

Histochimiquement, GIROUD et LEBLOND [64] ont mis en évidence la répartition de l'acide ascorbique dans les diverses parties de l'hypophyse. Les trois lobes se comportent différemment. Dans le lobe antérieur, toutes les cellules réagissent avec le nitrate d'argent, mais de façon différente. Ce comportement différent se manifeste au premier coup d'œil par l'aspect panaché de la coupe. Certaines d'entre elles ont tendance à se colorer fortement: ce sont les cellules chromophiles. Leur cytoplasma est entièrement rempli de grosses granulations noires. D'autres se colorent moins: ce sont les cellules chromophobes. Tout leur protoplasma est également plein de granulations, mais celles-ci sont fines et plus pâles.

Il est facile de se rendre compte de la nature des divers éléments qui ont réagi au nitrate d'argent. Il suffit de repérer les divers types cellulaires, de décolorer par le permanganate, puis par l'acide oxalique et enfin de récolorer par une technique banale.

BOURNE reconnaît aussi le comportement si particulier des cellules chromophiles et pour lui, il n'y aurait que de rares granules d'argent dans les cellules chromophobes.

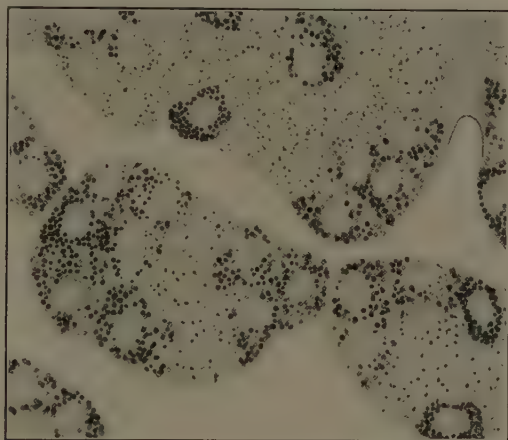


Fig. 19. Hypophyse de boeuf au nitrate d'argent. Les cellules chromophiles montrent une réaction plus forte que les chromophobes.

Les cellules du lobe intermédiaire sont toutes colorées de la même façon. Elles sont toutes remplies de fines granulations argentiques. Le lobe postérieur (nerveux) reste pratiquement sans réaction.

GIROUD, RATSIMAMANGA et RABINOWICZ [68], chez le bœuf, ont isolé par dissection les 3 constituants essentiels de l'hypophyse et les ont dosés séparément au TILLMANS. Le lobe antérieur est très riche: 170 mg. Il n'a pas été constaté de différence suivant les régions pourtant distinctes de ce lobe. Le lobe intermédiaire est encore plus riche: 200 mg; c'est le tissu le plus riche de l'organisme. Au contraire, le lobe postérieur est beaucoup plus pauvre (55 mg.), quoique bien plus riche que les autres tissus nerveux. Les dosages ayant porté surtout sur la partie centrale de ce lobe, ce taux ne peut être attribué à la présence de cellules du lobe

intermédiaire ni à celle de la pars tuberalis. La colloïde hypophysaire en est pratiquement dépourvue.

GLICK et BISKIND [80] ont confirmé cette répartition et ont reconnu aussi que le lobe intermédiaire est le tissu qui présente le taux le plus élevé. Ces auteurs ont envisagé l'hypothèse que les cellules du lobe nerveux pourraient être les plus riches de l'organisme: si l'on rapportait la qualité d'acide ascorbique au nombre de cellules. Cette hypothèse ne peut guère être soutenue, elle ne correspond pas avec les données histochimiques, elle ne correspond pas non plus avec les données d'ensemble concernant la

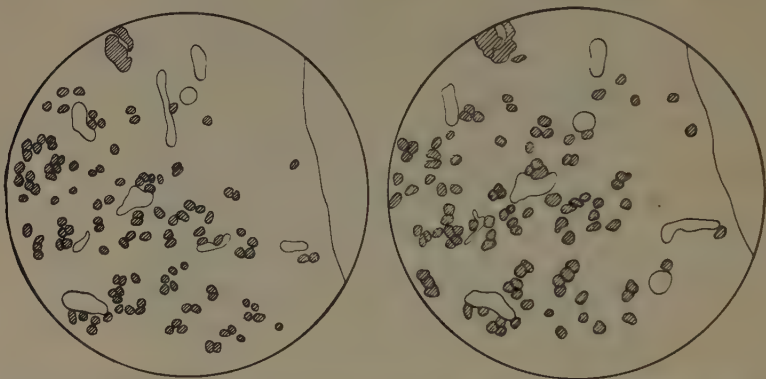


Fig. 20. Hypophyse. Repérage après nitrate d'argent des cellules fortement colorées. Le même point après élimination de l'argent et coloration banale. Superposition des cellules chromophiles aux cellules les plus réductrices. (D'après GIROUD et LEBLOND).

répartition de l'acide ascorbique qui ne permettent pas de négliger la présence de quantités quelquefois considérables de cette vitamine dans les humeurs ou les substances fondamentales.

Le taux élevé de ce tissu correspond vraisemblablement à une diffusion d'acide ascorbique à partir de la partie glandulaire de l'hypophyse vers les centres nerveux, diffusion dont les recherches histophysiologiques (R. COLLIN en particulier) et physiologiques ont depuis longtemps donné des exemples analogues pour d'autres substances.

Il faut signaler pour terminer que l'hypophyse paraît se comporter différemment des autres organes au cours de la carence. Le taux (dichlorophénol-indophénol) ne diminue que d'une façon très lente au lieu de tomber brusquement, comme c'est la règle;

peu avant la mort, le taux hypophysaire est devenu trois fois plus petit (30 au lieu de 90), alors que le taux surrénalien l'est devenu trente fois (5 au lieu de 140) [68—77].

Surrénale. La surrénale est un des organes les plus riches. C'est à son niveau que SZENT-GYÖRGYI [183] a mis en évidence pour la première fois l'identité du facteur réducteur et du facteur antiscorbutique et qu'il lui a donné son nom d'acide ascorbique.

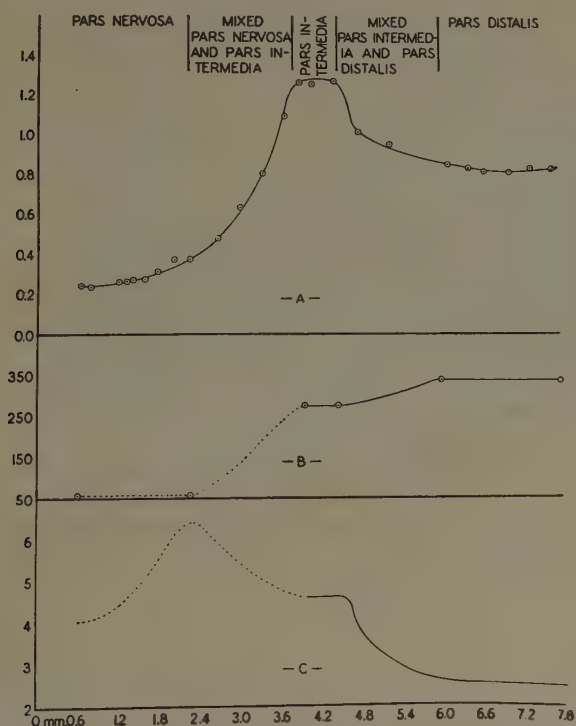


Fig. 21. Microdosages dans l'hypophyse de GLICK et BISKIND.

A. microgrammes de vitamine par coupe

B. nombre de cellules $\times 10^3$ par coupe

C. microgrammes $\times 10^{-6}$ de vitamine C par cellule.

De nombreux auteurs, entre autres HARRIS et RAY [93], ont prouvé par les méthodes biologiques que les surrénales des animaux (bœuf, cobaye, rat) sont douées de pouvoir antiscorbutique à la dose de 1 gr. par jour. La présence de fortes concentrations dans cet organe n'est donc pas discutable. Le résultat des méthodes

d'extraction l'ont également bien établi. Depuis, l'emploi du dichlorophénol-indophénol pour la mise en évidence de la vitamine C, de nombreux auteurs l'ont dosé au niveau de la surrénale de diverses espèces animales. Von EULER et KLUSSMANN [40—41], HARRIS et RAY [93], SVIRBELY [180], BESSEY et KING [6], TAUBER et KLEINER [184], MENDIVE et DEULOFEU (133), HUSZAK [99], GLICK et BISKIND [81], GIROUD, LEBLOND et RATSIMAMANGA et RABINOWICZ [73].

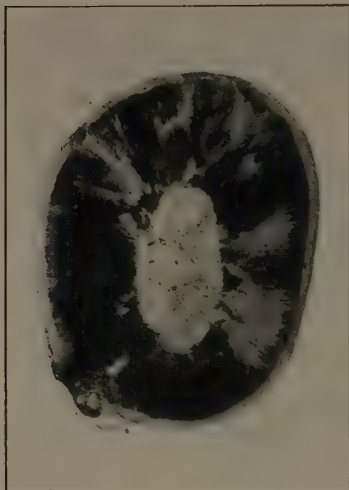


Fig. 22. Surrénale de rat injectée au nitrate d'argent acide. On voit que dans certaines régions le réactif n'a pas pénétré. On remarque la différence nette entre la médullaire et le cortex, aussi que l'absence de réaction au niveau de la zone glomérulée. D'après LEBLOND.

Histochimiquement sa présence a été vue par BOURNE [20—22] et étudiée en détail par GIROUD et LEBLOND [60, 62]. Elle a été observée par WESTERGAARD [190], VILLELA et PENNA DE AZEVEDO [188].

Le taux surrénalien global varierait de 120 (vache) à 230 (rat) selon EULER et KLUSSMANN. Chez le lapin, PLAUT et BÜLOW [161] auraient même trouvé de 300 à 400 mg. D'après nos propres observations (dichlorophénol), sur une quarantaine d'espèces de mammifères, il oscillerait au voisinage de 140 mg. pour 100 gr. de tissus frais. Il n'existerait guère de taux plus élevé que chez certains rongeurs comme le lapin où le taux moyen s'élève à 250

et surtout le rat chez lequel le taux moyen atteint même 300. Surtout chez ces derniers, les variations individuelles sont très importantes.

Signalons toutefois que certaines de ces valeurs seront peut-être à revoir. Il se peut en effet que certaines substances réductrices autres que la vitamine C aient pu intervenir dans les dosages. En tous cas, d'autres substances réductrices existent. OTT, KRAEMER et FAUST [155] ont en effet montré la présence d'une nouvelle substance contenant N et P possédant un pouvoir réducteur marqué, bien qu'inférieur à celui de l'acide ascorbique.

Bien entendu, chez l'homme, le singe et le cobaye où le taux dépend chez eux avant tout de l'apport en vitamine, on trouve des chiffres très variables. L'activité fonctionnelle de la glande (travail, intoxication, gravidité) et divers autres facteurs (sexe, etc.) déterminent d'importantes variations. Ainsi, chez le mâle, le taux est plus faible que chez la femelle. Au cours du travail,



Fig. 23. Coupe de surrénale de rat montrant la réaction des cellules fasciculées et son absence dans les cellules de la zone glomérulée (d'après GIROUD et LEBLOND).

RATSIMAMANGA [168] a montré qu'il se produisait une chute du taux qui ne revenait à la normale qu'avec le repos.

Il y a lieu de distinguer dans la surrénale ses deux constituants essentiels: cortex et médullaire, leur comportement est différent. La médullaire est toujours moins riche que la corticale. D'après HARRIS et RAY [93], le cortex de la surrénale de bœuf contient 180 tandis que la médullaire contient seulement 120 mg. Les dosages séparés nous ont donné ces résultats analogues:

	cortex	médullaire
bœuf	149	94
cheval	192	144

Histochimiquement, la médullaire ne réagit pas selon SZENT-GYÖRGYI [183] ou seulement après suppression des substances inhibitrices d'après HUSZAK [99]. En réalité, la réduction du nitrate d'argent existe naturellement, mais elle est limitée le plus souvent à l'appareil de GOLGI. Elle ne s'étend guère au chondriome qu'après l'acétate de plomb. BOURNE [20—22] a noté d'autre part que les émotions comme la peur, l'anesthésie au chloroforme ou à l'éther permettaient une coloration de la médul-

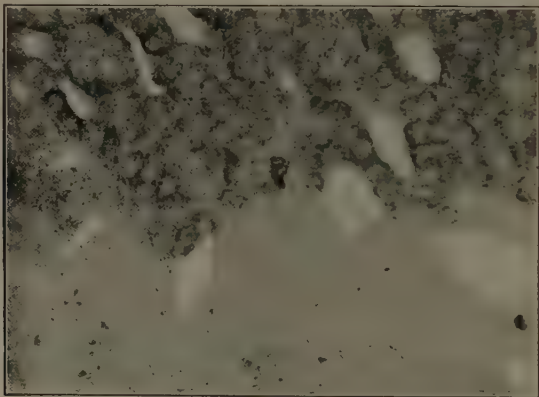


Fig. 24. Surrénale de rat, zone de contact entre le cortex et la médullaire. D'après GIROUD et LEBLOND. Photo H. RAGOT.

laire. Ces faits qu'il interprète comme une réduction de la forme oxydée pourraient peut-être résulter de la suppression d'une inhibition adrénalinique.

Le cortex ne se comporte pas d'une façon uniforme: sa structure n'est pas en effet homogène et on retrouve ici des différences manifestes selon les couches: glomérulées, fasciculées, et réticulées. Histochimiquement, avec le nitrate d'argent (GIROUD et LEBLOND [60—62] ont montré que les cellules de la fasciculée et de la réticulée donnent lieu à une forte réduction: manifestée par la présence de grains d'argent répartis dans tout leur cytoplasma à l'exclusion du noyau et qui paraissent correspondre au chondriome. Au contraire, les cellules de la glomérulée ne donnent normalement aucune réaction. A l'inverse des premières qui paraissent contenir beaucoup d'acide ascorbique, ces dernières en contiendraient peu. Ce fait correspond à la conception des

histophysiologistes qui ont toujours considéré cette dernière couche comme une zone à part et plus précisément comme une zone de cellules au repos ou de réserve. Les microdosages de GLICK et BISKIND [81, 85] confirment bien ce fait. En dosant en effet en série les diverses couches de la surrénale ils ont vu aussi bien chez le bœuf adulte que chez le fœtus en voie de développement que le taux de l'acide ascorbique dans la zone glomérulaire est très bas, s'élève d'une façon considérable dans la zone fasciculée, diminue dans la zone réticulée pour retomber dans la médullaire à des valeurs intermédiaires. Voir page 14 et fig. 25. Toutes ces observations histochimiques et chimiques révèlent donc la richesse exceptionnelle des couches fasciculée et réticulée et spécialement celle de la première. Il y a lieu de penser que ces faits sont liés avec l'état fonctionnel de ces divers éléments.

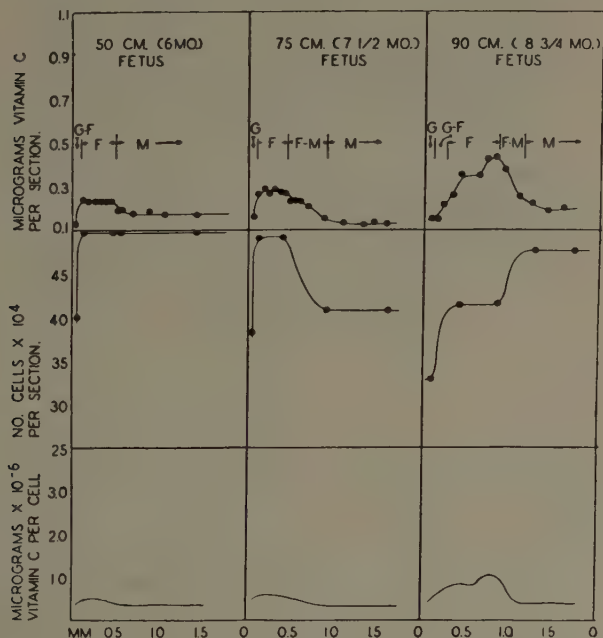


Fig. 25.

Courbes de microdosages de GLICK et BISKIND dans la surrénale fœtale.

Ovaire. VON EULER [42] (1933) a signalé le premier la présence de la vitamine C dans l'ovaire. GOUGH et ZILVA [87], en se

basant sur la réduction du nitrate d'Ag, puis HUSZAK [98—99] par la méthode de Tillmans, ont la même année confirmé cette notion. Histochimiquement, GIROUD et LEBLOND [59] ont montré sa distribution élective.

Dans l'ensemble de l'ovaire, HUSZAK a trouvé chez la génisse 25 mg. On trouve couramment un taux voisin de 17 mg. La présence du corps jaune fait augmenter ce taux global (37 mg). Globalement L. LEY [123] a trouvé chez la femme une valeur moyenne de 17,8 mg. au dichlorophénol et de 10,6 au bleu de méthylène. Les valeurs les plus basses ont été observées sur des ovaires en déficience fonctionnelle.

L'étude des différentes parties de l'ovaire est très intéressante car elle révèle le rôle important joué par l'acide ascorbique au

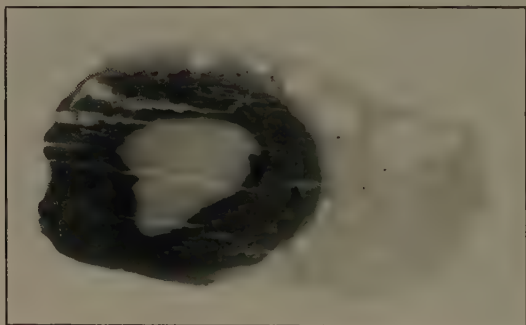


Fig. 26. Coupe totale de l'ovaire de vache. Nitrate d'argent. Forte coloration du corps jaune. Le reste de l'organe reste incolore.

cours du fonctionnement physiologique de cet organe. GOUGH et ZILVA avaient déjà constaté par la méthode au nitrate d'argent que le corps jaune contient plus de vitamine que le reste de l'ovaire.

GIROUD et LEBLOND avec leur méthode histochimique ont pu constater en particulier avec GIROUX [59] que le tissu du corps jaune, cellules lutéiniques, était riche en vitamine C, à l'inverse du reste du tissu ovarien (cellules folliculeuses, cellules thécales, sauf, semble-t-il, les cellules interstitielles des rongeurs).

Les cellules lutéiniques en effet sont fortement colorées par l'argent réduit au niveau de l'appareil de GOLGI et de tout le chondriome: la disposition des granules est très typique (voir fig. 12 et fig. 13).

Les cellules folliculeuses comme les cellules thécales, restent complètement incolores.

Les observations de BOURNE [20—22] sont concordantes. Il n'y a, selon lui, aucune réaction ni dans les cellules de la granulosa, ni dans celles du disque prolifère. Il en note seulement quelques-unes dans l'ovocyte.

Ajoutons toutefois que dans le stroma, certaines cellules (histiocytes) présentent accidentellement une légère réaction.

HUSZAK par la méthode de Tillmans a trouvé au niveau du corps jaune les chiffres suivants: 130 mg. porc, 119 mg. vache.

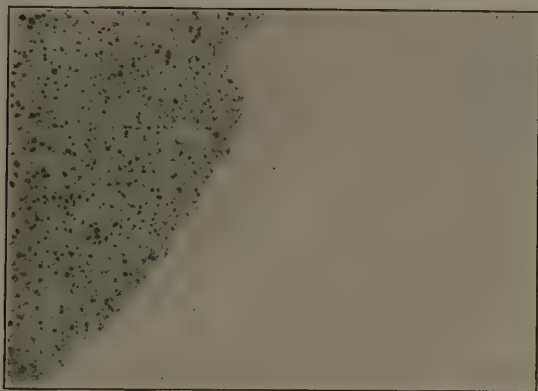


Fig. 27. Coupe d'ovaire au nitrate d'argent, à gauche corps jaune avec cellules lutéiniques, à droite un follicule.

MENDIVE et DEULOFEU [133] chez le même animal donnent des valeurs allant de 120 à 190 mg.

Naturellement chez la femme les valeurs sont bien plus faibles. Le taux moyen trouvé par POLICARD et FERRAND [164—165] est de 20 mg. Dans le corps jaune gravidique L. LEY [123] trouve en moyenne 58 mg. (dichlorophénol) et 54,5 (bleu de méthylène) (en dehors de la charge par le Redoxon).

Biologiquement, ces hautes concentrations ont été confirmées par VON EULER [42] et ses collaborateurs ainsi que par HUSZAK [98].

Les différents constituants de l'ovaire se comportent de façon distincte.

ovaire total sans corps jaune	17	mg. pour 100 gr.
ovaire total avec corps jaune	37	mg. pour 100 gr.
cortex de l'ovaire sans corps jaune	21	mg. pour 100 gr.
partie centrale	18	mg. pour 100 gr.
liquide folliculaire	0,9	mg. pour 100 gr.
corps jaune (âges divers)	113	mg. pour 100 gr.

Les variations du taux de l'acide ascorbique au niveau du corps jaune méritent d'attirer l'attention, car elles sont en rapport avec l'activité physiologique.

Déjà HUSZAK avait constaté que le corps jaune au début chez la truie est plus riche en vitamine C (74 mg.) qu'en involution (19 mg.).

BISKIND et GLICK [16—17] ont suivi l'évolution du corps jaune chez la vache; ils sont arrivés à des résultats intéressants et ils ont souligné le rapport possible de ce taux avec la production de progestine.

corps jaune complètement mûr	140	mg.
corps jaune commencement d'involution	80	mg.
corps jaune involué et atrophié	35	mg.
corps jaune gravidique des 7 premiers mois	200	mg.
corps jaune gravidique du 8 ^{ème} mois	110	mg.

GIROUD, RATSIMAMANGA, LEBLOND et RABINOWICZ [75] donnent les chiffres suivants concernant l'évolution du corps jaune périodique.

corps jaune jeune	75	mg.
corps jaune adulte	103	mg.
corps jaune en régression	58	mg.

Chez la vache en gestation, voici les variations que nous avons observées au niveau du corps jaune.

	2 ^d mois	3 ^d mois	6 ^d mois	9 ^d mois
1 ^{ère} série	87	151	134	115
2 ^{dème} série	126	172	152	136

POLICARD et FERRAND [164—165] ont également retrouvé cette évolution chez la femme: le corps jaune adulte est plus riche en acide ascorbique que le corps jaune en involution.

Age du corps jaune en jours après l'ovulation	taux	Age du corps jaune en jours après l'ovulation	taux
0	0,23	7	0,25
1 ou 2	0,29	6	0,67
1 ou 2	0,29	7	0,64
3	0,29	13	1,00
5	0,26	14	0,87
5	0,29	15	1,03
6	0,43	19	0,33

En réunissant ces faits chimiques aux faits histochimiques (réaction négative de la cellule folliculeuse sécrétant la folliculine et réaction positive de la cellule lutéinique qui en dérive et qui sécrète la progestine) on est amené à constater qu'il existe des relations manifestes entre le fonctionnement hormonal et l'acide ascorbique (voir page 98).

Testicule. Le testicule peut être étudié ici comme glande endocrine.

Chimiquement, le testicule donne (méthode de Tillmans) des chiffres plutôt faibles 18 à 35 mg. d'après BESSEY et KING [6]. MENDIVE et DEULOFEU [133] ont trouvé 29 mg. à 39 mg. chez le bœuf. TAUBER et KLEINER [184] ont constaté chez le lapin seulement une teneur de 14 mg. BISKIND et GLICK ont suivi l'évolution du taux chez le fœtus, le veau et le taureau (respectivement 50—54; 66—87; 34—50).

Nous avons trouvé chez le porc 43 mg., chez le cheval 46 mg., chez le bœuf 30 mg. et chez le chien 45 mg.

L'acide ascorbique n'est pas uniformément réparti dans tous les éléments qui constituent le testicule. Des cellules sexuelles isolées par raclage (comprenant toute la lignée génitale) ont donné 31 mg. 5, des spermatozoïdes (pris dans l'épididyme) 19 mg. 6 seulement.

Histochimiquement, GIROUD et LEBLOND [63] ont vu que c'est surtout le tissu interstitiel qui serait riche en acide ascorbique. Les cellules interstitielles apparaissent en effet après l'action du nitrate d'argent remplies de granulations métalliques, sauf naturellement au niveau de leur noyau. Il faut noter cependant que le tissu éminifère donne aussi quelquefois quelques réactions, mais d'une façon irrégulière et inconstante. Ces auteurs ont cherché à

confirmer ce fait chimiquement en dosant comparativement chez le porc des testicules normaux et des testicules ectopiques dans lesquels l'interstitielle est plus développée; ils n'ont trouvé en moyenne que 35 mg. 5 chez le cryptorchide pour 40 mg. chez le normal. Cependant, BISKIND et GLICK [18] confirment par leurs observations la richesse du tissu interstitiel.

BISKIND et GLICK ont fixé dans l'abdomen un des testicules chez une série de lapins et ont ainsi dosé comparativement les

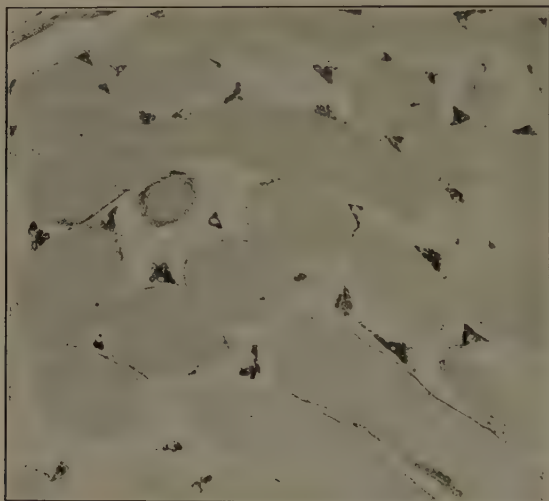


Fig. 28. Testicule de souris après injection de nitrate d'argent. Réaction marquée du tissu interstitiel (d'après GIROUD et LEBLOND).

testicules normaux et les testicules expérimentalement ectopiques. Ces derniers chez lesquels le tissu interstitiel est relativement plus développé ont un taux plus élevé.

testicules ectopiques	testicules normaux
60	27
48	30
43	21
40	25
61	26

Ils ont de plus mesuré quantitativement le tissu interstitiel et de tubes séminifères en découpant, et pesant séparément les tubes et le tissu interstitiel des sections totales de l'organe. Dans ces conditions, en admettant invariable le taux des tubes 21 à 30 mg.), ils ont pu estimer que celui du tissu interstitiel atteindrait 252 mg. (170—370).

Epiphyse. Le dosage de l'épiphyse a été effectué d'abord par GLICK et BISKIND [84]. Ils ont trouvé chez le fœtus de bœuf 15 à 27 mg., chez le veau 12 à 16 mg., chez la vache 7 à 12 mg. Ils en concluent à une baisse du taux au cours de la vie. Nous avons observé les valeurs suivantes au Tillmans chez l'animal adulte.

Bœuf	22 mg.
cheval	36 mg.
mulet	62 mg.

Chez l'homme d'après PLAUT et BÜLOW [162] la valeur moyenne de l'épiphyse serait de 10 mg. 8.

Thyroïde. Au niveau de la thyroïde, selon MENDIVE et DEULOFEU [133] le taux varierait de 16 mg. à 23 mg. chez le bœuf. Voici les chiffres moyens que l'on peut observer chez divers animaux:

bœuf	17 mg.
cheval	18 mg.
chien	20 mg. 5

Ces chiffres ne correspondent probablement pas au taux cellulaire; il se peut que la présence de la colloïde détermine une baisse apparente.

Parathyroïde. La parathyroïde contient une quantité assez importante de vitamine C. D'après GIROUD, RATSIMAMANGA et RABINOWICZ [68], elle contient chez le cheval 44 mg., chez le chien 60 mg.

Thymus. Le thymus est étudié avec les tissus lymphopoiétiques.

Pancréas. Le pancréas l'est avec les glandes exocrines.

Sang et tissus hémo et lymphopoiétiques

Sang. L'acide ascorbique du sang a été étudié par de nombreux auteurs et avec l'aide de diverses méthodes depuis les premières observations d'EMMERIE, DE VAN EEKELLEN, JOSEPHY

et WOLFF d'une part et de VON EULER et de KLUSSMANN d'autre part. Néanmoins la question reste encore très controversée.

Il y existerait sous deux formes, réduite et oxydée, c'est à cette conception que l'on a été amené à la suite des recherches de purification (élimination des substances à fonction SH) suivies de réduction par H_2S .

EMMERIE et ses collaborateurs ont trouvé 5 mg. d'acide ascorbique réduit par litre de sang. L. TAYLOR, CHASA et FAULKNER [185] ont obtenu un taux plus élevé: 16 mg. l par litre. FARMER, CHRISTER et ABT donnent des valeurs analogues. BEZSSONOFF avec sa méthode personnelle obtient seulement 7 mg. par litre de vitamine C réduite. Selon EMMERIE, EEKELEN, JOSEPHY et WOLFF [36], la vitamine C se trouve dans le sang surtout sous forme réversiblement oxydée; car après réduction par H_2S on trouverait 20 mg. 50 d'acide ascorbique total au lieu de 5 mg. sous forme réduite.

VAN EEKELEN et ses collaborateurs [36] pensent que l'acide ascorbique s'oxyde rapidement dans le sang: le phénomène aurait été observé in vitro. Mais PLAUT et BÜLOW ne semblent pas de cet avis.

Des valeurs variant entre 11 mg. 9 et 29 mg. sous forme totale, ont été constatées par MIRSKY, SWADESH et SOSKIN [134].

La répartition de la vitamine C dans le sang n'a pas souvent été précisée.

Histochimiquement on a pu observer une réduction inconstante du nitrate d'argent sur les globules rouges dépendant de l'acide ascorbique puisque disparaissant par carence (GIROUD et LEBLOND). On doit rapprocher ce fait des observations de GABBE qui montrent une adsorption marquée de la vitamine au niveau des globules.

STEPHENS et HAWLEY [177] ont dosé les différents éléments du sang. Voici leurs chiffres qui paraissent assez élevés:

Sang total	de	6 mg.	6 à	54 mg.	5	par litre
Plasma	de	7 mg.	à	37 mg.	5	„ „
globules rouges	de	7 mg.	2 à	64 mg.	7	„ „
globules blancs	de	69 mg.	5 à	750 mg.	„	.

Le taux élevé trouvé dans les globules blancs permet de comprendre le taux élevé du sang des leucémiques (STEPHENS et HAWLEY).

Les variations du taux seraient notables. Selon MIRSKY, SWADESH et SOSKIN [134] il varierait de 11 mg. à 29 mg. par litre. Elles sont dues à divers facteurs: alimentation, maladies (GABBE [52—53]). Avec un régime scorbutigène le taux diminue (VAN EEKELEN et ses collaborateurs.) SCHROEDER [175], FARMER, CHRISTER et ABT [47] ou même tomberait à zéro (ROHMER, BEZSSONOFF et STOERR [173]. On s'est servi de ces variations pour diagnostiquer l'état de l'organisme humain: carence, pré-carence, état normal.

C'est ainsi que chez l'homme entre 0 et 4 mg. (par litre) la teneur est insuffisante, entre 4 et 12 mg. elle serait suffisante et excellente audessus de 12 mg. (WOLFF, BANNING, VAN EEKELEN [192 bis]).

Ici se pose tout particulièrement la question de la réalité de la présence de l'acide ascorbique sous forme oxydée. Pour la forme réduite, il semble qu'il n'y ait guère de doutes, puisque d'après les observations de ROHMER, BEZSSONOFF et STOERR [173], de SCHROEDER et de ses collaborateurs [175], le taux baisse avec la carence.

Il n'en est pas de même pour la forme oxydée. Récemment KELLIE et ZILVA n'ont pas constaté de baisse de cette forme au cours de la carence; de plus, ils n'auraient pu constater par la méthode spectrographique, l'absorption caractéristique de la vitamine C correspondant à cette forme oxydée. Aussi ont-ils été tentés de nier l'existence de la forme oxydée.

C'est aussi ce que pense maintenant VAN EEKELEN. Récemment CHEVALLIER et CHORON [29] avec leur méthode spectrophotométrique estiment l'acide ascorbique à 20 mg. par litre. Enfin signalons que tout récemment GABBE pense que bien des faits discutés doivent trouver leur explication dans des phénomènes d'adsorption.

Rate. WOLFF, VAN EEKELEN et EMMERIE [192] ont signalé que la rate contient 20 mg. TAUBER et KLEINER [184] donnent 22 mg. Nous avons trouvé 22 mg. (bœuf) et 29 mg. (cheval).

Thymus. D'après MENDIVE et DEULOFEU le thymus contiendrait 50 mg. par 100 gr. Le taux est plus élevé chez le jeune. Il en serait ainsi chez le lapin selon EULER et KLUSSMANN [41]. Il en serait de même chez l'homme JAWORSKY, ALMADEN et KING [104]. GLICK et BISKIND [83] ont étudié le thymus du bœuf au cours du développement: en tenant compte des correc-

tions qu'impose la présence du tissu conjonctif ou adipeux, le tissu lymphoïde ne varierait guère de taux (31 à 67 mg.): le taux global au contraire diminue beaucoup, passant de 35—52 à 4—17.

Ganglions lymphatiques. Les ganglions lymphatiques contiennent une quantité assez importante de vitamine C; en effet voici nos chiffres:

bœuf	51 mg.	mouton	49 mg. 9
cheval	46 mg.	cobaye normal . .	50 mg. 4

Les glandes hémolympatiques sont un peu moins riches: 37 mg. chez le cheval.

Amygdale. L'amygdale a été étudiée surtout chez l'homme. DON ZIMMET et DUBOIS-FERRIÈRE [197] ont obtenu des valeurs de 20 et 25 mg. pour 100. CLAYTON et KEITH [32] trouvent de 10 à 47,5 pour 100 (moyenne 24): valeurs correspondant relativement bien à l'apport de vitamine. Nous avons trouvé chez le bœuf 34 mg. et le mouton 45 mg. dont la constitution varie beaucoup.

Moelle osseuse. La moelle présente des taux qui évoluent de même. Dans la moelle rouge renfermant des trabécules osseuses où il y a prédominance des cellules actives (séries myéloïdes et lymphoïdes on trouve 5 mg. (bœuf) tandis que dans la moelle grasseuse on ne trouve que 2 mg. 4 (bœuf) et 2 mg. 2 (cheval).

Tissu nerveux

La présence de l'acide ascorbique au niveau du tissu nerveux a été l'objet d'un grand nombre de recherches. On peut admettre un taux global voisin de 15 mg. pour 100 grammes de matière fraîche.

La distribution de la vitamine C n'est pas quelconque: elle est en relation manifeste avec sa constitution histologique.

La substance grise c'est-à-dire celle qui contient les cellules nerveuses, est plus riche que la substance blanche. L'écorce grise du cervelet viendrait la première, ensuite celle du cerveau, les substances blanches ne viennent que bien après (MELKA [132]).

La différence entre la substance grise et la substance blanche est très nette. Voici les valeurs en milligrammes d'acide ascorbique trouvées pour 100 grammes de substance fraîche.

	bœuf	cheval
subst. grise . . .	15,5	17
subst. blanche .	10	12

Voici selon Melka les valeurs de diverses parties du névraxe :

	lapin mg.	veau mg.	cobaye mg.	homme mg.
cerveau cortex	24	20	20	14
cerveau subst. blanche . . .			16	
cervelet	27	27	21	17
corps calleux	18	15	—	11
corps strié	22	—	—	—
tub. quadrijumeaux	29	—	—	—
bulbe	—	13	—	—
globus pallidus	—	—	—	13
subst. blanche de la moelle épineière	—	—	—	14

PLAUT et BÜLOW [162] ont trouvé, au niveau du cerveau humain adulte, des chiffres plus faibles :

cerveau (rég. frontale) . 10 mg.	noyau caudé 13 mg.
globus pallidus 11,7 mg.	locus niger 15 mg.
thalamus 12 mg.	corne d'amon. 17 mg.

A. CHEVALLIER et Y. CHORON [30] trouvent spectrographiquement chez le lapin des valeurs plus faibles et différents selon les régions 2,5 pour les lobes optiques, 3,9 pour le cervelet et 6 pour le mésencéphale. De plus, il y aurait selon ces auteurs de grandes variations individuelles du taux global (de 3 à 15) chez des cobayes soumis cependant à régime défini.

Les ganglions ont des valeurs différentes selon leur nature comme les dosages de GIROUD, RATSIMAMANGA et RABINOWICZ [68] l'ont montré. Les ganglions rachidiens ont des chiffres faibles 15 mg. Les ganglions sympathiques ont au contraire des chiffres plus élevés (23 mg.). Il en est particulièrement ainsi pour les ganglions lombaires où ils ont pu noter jusqu'à 60 mg. pour 100 gr. Cette particularité mérite d'être notée et d'être rapprochée de l'absence de cytochrome ou plus exactement de l'absence de réaction à la paraphénylènediamine + α -naphtol signalée par HUSZAK. Ces deux particularités rattacheraient ainsi chimiquement ces éléments sympathiques aux cellules de la médullo-surrénale.

Les fibres nerveuses du névraxe sont moins riches que les cellules elles-mêmes : la substance blanche est en effet deux fois

moins riche (10 mg.) que la substance grise, le nerf optique qui lui est comparable ne contient que 11 mg. également. Les nerfs périphériques sont relativement pauvres (3 mg. d'après MELKA [132]). Les nerfs cérébro-spinaux nous ont donné 4 mg. tandis que les nerfs sympathiques nous donnent des valeurs plus élevées (18 mg.).

Le lobe nerveux de l'hypophyse que l'on doit citer ici se montre particulièrement riche: GIROUD, LEBLOND et RATSI-MAMANGA [77] avec la méthode de TILLMANS, ont trouvé 55 mg. par 100 grammes de matière fraîche. Chez le bœuf, GLICK et BISKIND [80] par leur méthode de microdosage ont confirmé cette richesse relative. Il s'agit vraisemblablement selon nous d'acide ascorbique diffusant vers les centres nerveux (voir page 50).

On s'est demandé s'il s'agissait vraiment d'acide ascorbique. Les résultats des auteurs sont divergents. Selon YOUNG et MITOLO [195] on aurait constaté par l'épreuve biologique sur le cobaye que le tissu nerveux donnait des résultats négatifs. Par contre, selon BONSIGNORE et ARDY [19] en évitant l'effet toxique de trop fortes doses de substances cérébrales, on peut nettement constater un effet protecteur correspondant essentiellement au pouvoir réducteur sur le dichlorophénol.

KALNINS [113] a constaté que le cerveau humain agit expérimentalement comme antiscorbutique. Le cerveau de l'enfant 1 mois $\frac{1}{2}$ se comporte comme renfermant 75 mg. de vitamine et celui de l'adulte seulement 15 mg. par 100 grammes.

D'après les recherches de MALMBERG et de EULER [127] il y a une différence tout à fait nette et démonstrative dans le comportement du système nerveux chez les animaux carençables et non carençables qui est bien en faveur de la nature vitaminique des substances réductrices dosées. Chez le lapin, malgré un régime privé de vitamine C, le taux reste stable, tandis que chez le cobaye il tombe de 26 mg. % à 5 mg. % au 26 ième jour de la carence. Les dosages de MELKA ainsi que les nôtres confirment ces faits. La présence de quantités importantes d'acide ascorbique paraît donc ainsi établie. D'ailleurs, les données spectrophotométriques le confirment (PLAUT et BÜLOW [162]). LOUREIRO [125] a montré sur des extraits très purifiés que le tissu nerveux (cerveau du veau) possédait bien un taux d'acide ascorbique analogue (12 mg.) à celui indiqué par la méthode de Tillmans (12 mg.). Cependant

récemment CHEVALLIER et Y. CHORON [30] ont publié des valeurs plus faibles.

Le liquide céphalo-rachidien contient aussi de l'acide ascorbique en quantité appréciable (PLAUT et BÜLOW, MARINESCO, ALEXIANU-BUTTU et OLTÉANU [128]) (BEZSSONOFF et STOERR [9]). Ces derniers avec leur réactif trouvent environ chez l'homme adulte 7 mg par litre. Selon MARINESCO et ses collaborateurs, le taux mesuré au TILLMANS varierait de 8 mg. à 14 mg. par litre entre 20 et 40 ans.

Sa teneur dépend nettement de l'alimentation (PLAUT et BÜLOW). Aussi serait-elle le meilleur moyen de diagnostic des avitaminoses. Elle varie nettement chez l'homme avec l'âge, comme l'ont observé ROHMER, BEZSSONOFF et STOERR [173] chez les prématurés et les nouveaux-nés, MARINESCO et ses collaborateurs chez les adultes (voir page 85).

Organes des sens, Œil. On peut rattacher l'œil au tissu nerveux malgré sa constitution complexe. MÜLLER [146] a constaté pour la première fois l'existence de l'acide ascorbique au niveau de l'humeur aqueuse. KOTAKE et NISHIGAKI [116] ont, de leur côté, signalé le même fait. Le contrôle biologique a été entrepris par BIRCH et DANN [15] d'une part et KOWACHI d'autre part; dans l'ensemble, ces données confirment les indications chimiques des méthodes de Tillmans (DUMAZERT et PASSELAIGNE) et de BEZSSONOFF, NORDMANN et REISS [10]. De plus, par la méthode spectrographique, VAN EEKELEN, EMMERIE, JOSEPHY et WOLFF ont pu montrer que le spectre d'absorption dans l'ultra-violet de l'humeur aqueuse et du cristallin et l'intensité de l'absorption correspondraient aux taux trouvés par le dosage chimique.

Les différentes parties de l'œil n'ont pas la même teneur d'acide ascorbique.

L'humeur aqueuse semble être une des parties les plus riches: 20 mg. d'après MÜLLER et BUSCKE chez le bœuf (dichlorophénol-indophénol), ce qui est confirmé par les résultats donnés par la méthode biologique (BIETTI et CARTENI [12]; pourtant par la même méthode, DEMOLE et EULER n'auraient trouvé que la moitié et DANN les $\frac{2}{3}$.

Chez le chien et le chat, elle serait plus pauvre que chez le boeuf et le mouton, d'après BIETTI et CARTENI. Chez l'homme, la teneur normale serait de 12,8 (MÜLLER et BUSCKE).

Le cristallin est également une des parties les plus riches en acide ascorbique de l'œil, car d'après MÜLLER et BUSCKE, il contient 30 mg. (Tillmans). Cependant EVANS semble ne pas pouvoir affirmer l'existence de l'activité biologique du cristallin; pourtant, VAN EEKELEN, EMMERIE, JOSEPHY et WOLFF, par la spectrographie, ont mis en évidence son existence.

EULER et MALMBERG [44] ont trouvé des quantités relativement fortes dans le cristallin du bœuf et de certains poissons. Chez l'homme normal, il contiendrait en moyenne 31 mg. L'écorce du cristallin serait plus riche que le noyau, selon BIETTI [13], NAKAMURA B. et NAKAMURA O. [147]. GLICK et BISKIND [84 bis].

Les autres parties de l'œil contiennent également de la vitamine C, comme l'ont constaté MÜLLER, BUSCKE et BRACCI TORSI.

NAKAMURA B. et NAKAMURA O., en dosant les différentes parties de l'œil du lapin, rangent celles-ci dans l'ordre décroissant ci-dessous: Pars pupillaris iridis 50 mg., pars ciliaris iridis, corps ciliaire, humeur aqueuse, cornée, rétine, enfin la sclérotique et le corps vitré qui ne contiendraient que 1 mg.

Voici un ensemble de chiffres chez le bœuf et le cheval:

	bœuf	cheval
Nerf optique . .	8 mg. 65	11 mg.
Humeur aqueuse	19 mg. 85	22 mg. 47
Humeur vitrée .	9 mg. 5	13 mg. 8
Chorion	10 mg. 4	13 mg.
Rétine	22 mg. 6	12 mg. 9
Sclérotique . . .	1 mg. 6	5 mg. 1
Cristallin	27 mg. 9	42 mg.
Iris	20 mg. 1	20 mg.

Certains auteurs auraient trouvé des variations de la teneur de l'œil au cours de certaines affections. On constaterait une baisse du taux de l'humeur aqueuse (NAKAMURA B. et NAKAMURA O.) dans le glaucome, la rétinite pigmentaire, l'uvéite chronique, l'hydrophtalmie, la cataracte sénile. Le cristallin, au cours de la cataracte, perd progressivement son acide ascorbique (MÜLLER [146]), B. NAKAMURA et O. NAKAMURA, BELLOW [4], EULER et MALMBERG [44], comme d'ailleurs les autres substances oxydo-réductrices (SH, flavine).

Il en résulterait une élévation du potentiel d'oxydo-réduction REISS et NORDMANN [171].

Tissu musculaire

Le tissu musculaire est d'une façon globale pauvre en acide ascorbique. Sa teneur varie en général entre 1 mg. 5 et 7 mg. pour 100 gr. Cette notion repose essentiellement sur des dosages au dichlorophénol. Il n'y a cependant pas de doute sur la nature du principe réducteur en cause. Depuis longtemps le pouvoir anti-

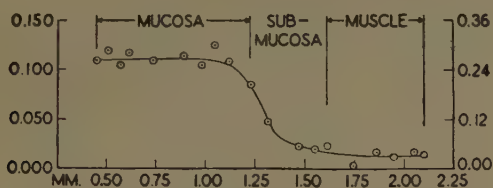


Fig. 29.

Intestin grêle. Courbe de microdosage de GLICK et BISKIND.

scorbutique faible mais réel du tissu musculaire a pu être constaté. CHICK et DALYELL [31], DUTCHER, PIERSON et BIESTER [35], GIVENS et MAC CLUGAGE [33 bis]. De plus ce pouvoir réducteur diminue au cours de la carence, ce qui prouve bien qu'il s'agit de vitamine C.

	muscle squelettique	muscle cardiaque
cobaye normal .	2,2	8,4
cobaye carencé .	0,7	2,9

Histochimiquement nous avons considéré les réactions argentiques comme négatives. BOURNE [22] cependant a décrit de petits granules dans la fibre cardiaque et le muscle squelettique (voir figure 14 et 30).

Muscles squelettiques. Le muscle squelettique (muscle strié appartenant à la vie de relation) contient très peu d'acide ascorbique. BESSEY et KING [6] ont trouvé un chiffre moyen de 4 mg.: JAWORSKY, ALMADEN et KING [104] donnent le même chiffre. Selon WACHHOLDER et UHLENBROOK [188 bis] les muscles toniques sont plus riches que les muscles non toniques. Ils contiennent en outre plus d'a. ascorbique oxydé (près de 50 %).

Chez le bœuf nous ne trouvons que 1 mg. 6, chez le cheval que 1 mg. 2, le chien que 1 mg. 6 et le rat que 2 mg. Chez le lapin où les muscles squelettiques sont nettement de deux sortes: les muscles rouges à sarcoplasme abondant sont plus riches (1,7) que les muscles blancs (0,6) à sarcoplasme réduit.

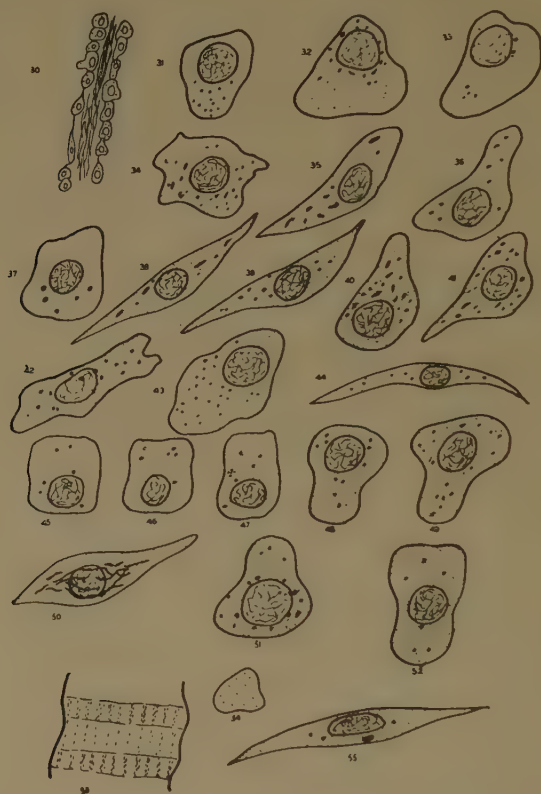


Fig. 30. Cellules diverses (nitrate d'argent acide)
d'après BOURNE.

- 30. Partie de l'alvéole pulmonaire.
- 44. Cellule de l'endothélium capillaire du poumon.
- 45—49. Cellule broncho-pulmonaire.
- 50. Cellule conjonctive de la trachée.
- 51. Cellule cartilagineuse de la trachée.
- 53. Muscle strié en long: présence de la vitamine C dans les disques sombres et grains orientés parallèlement aux fibres musculaires.
- 54. Coupe transversale de fibre musculaire.
- 55. Tissu conjonctif périmusculaire.

Muscle cardiaque. Le muscle cardiaque est plus riche que le muscle squelettique. BESSEY et KING ont trouvé 5 mg. et 15 mg. comme chiffres moyens chez divers animaux. D'après TAUBER et KLEINER [184] le cœur de cobaye contient 8 mg.

Nous avons trouvé chez le bœuf 3 mg. 8, chez le cheval 6 mg. 1, chez le chien 3 mg. 4 et chez le cobaye normal 8 mg.

Muscles lisses. GLICK et BISKIND [82] par leur micro-méthode ont trouvé au niveau des muscles lisses intestinaux (duodénum et jéjunum) un taux de 6 mg. WACHHOLDER et UHLENBROOK [188 bis] ont trouvé 10 mg. + 30 % d'oxydé. Voici quelques chiffres chez le bœuf et le cheval.

	estomac	intestin	vessie	utérus	rétracteur du pénis
bœuf	6,3	6,2	4,3	—	2,4
cheval	6	—	5	7	—

On voit que suivant le type morphologique et fonctionnel les taux sont différents. Les muscles lisses sont plus riches que les muscles striés; le muscle cardiaque plus que le muscle squelettique. Il semble ainsi que la richesse en acide ascorbique aille de pair avec la richesse en sarcoplasme: il y a probablement là une relation fonctionnelle. Le taux est maximum dans le muscle à sarcoplasme abondant qui est physiologiquement un muscle à travail prolongé où les phénomènes de récupération sont des plus importants.

Tissus conjonctifs et dérivés

L'acide ascorbique existe mais en petite quantité dans le tissu conjonctif et ses dérivés: tissus élastique, cartilagineux, osseux, adipeux. Il est vraisemblable que dans ces tissus il se trouve non seulement dans les cellules mais aussi dans les substances fondamentales, sans cela, vu le petit nombre des cellules, sa concentration devrait être forte dans ces dernières et ce n'est pas ce qu'indiquent les résultats histochimiques.

BOURNE [20 bis] a figuré quelques granules dans des cellules conjonctives (voir fig. 30). Les réactions sont exceptionnelles et de localisation indéterminée d'après nous. Dans les histiocytes bien que toujours irrégulières, elles seraient un peu plus fréquentes.

DEMOLE, CAHEN et PFALTZ [34] ont recherché la présence de la vitamine C au niveau des tissus dentaires, plus exactement au niveau des zones matricielles de la dent. Ce tissu a donné au

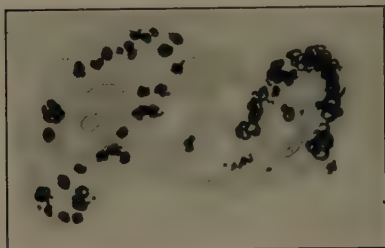


Fig. 31. Réaction au chlorure d'or des cellules déciduales humaines d'après TONUTTI et PLATE.

Tillmans 9 mg. pour 100 chez le cobaye normal et 3 mg. chez le carencé. En utilisant le nitrate d'argent acide ils ont vu une coloration noire de part et d'autre de la substance dentaire néoformée. Dans le protoplasma des adamantoblastes (cell. productrices de l'émail) une forte réaction, peut-être au niveau de l'appareil de GOLGI. Cette réaction persiste mais atténuée chez le carencé.

En général dans tous les tissus conjonctifs les valeurs ne s'élèvent guère au-dessus de 2 mg. pour 100 gr.

derme (cheval)	2 mg.	cartilage (bœuf)	2 mg.
tendon (bœuf)	1 mg. 34	graisse (cutanée, bœuf) . .	0 mg. 8
ligament élastique (bœuf)	1 mg. 2	graisse rénale (bœuf) . .	0 mg. 6
os (bœuf)	4 mg.	synovie (cheval)	0 mg. 56
os (cheval)	2 mg.		

La sclérotique que l'on peut ranger avec les tissus fibreux ne contient chez le lapin que 1 mg. d'après B. NAKAMURA et

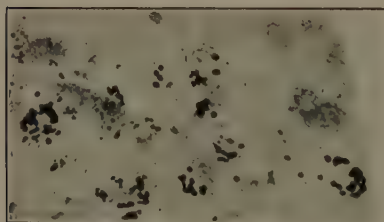


Fig. 32. Réaction au chlorure d'or des cellules déciduales. Microphoto. D'après TONUTTI et PLATE.

O. NAKAMURA [147]. Chez le bœuf nous avons trouvé 1,6 et 5,1 chez le cheval. Le corps vitré selon NAKAMURA et NAKAMURA contient 1 mg. La gelée de WHARTON (tissu du cordon ombilical) 3,6 chez le veau.

Les valeurs du tissu adipeux diffèrent notablement suivant le type histologique. Ainsi chez le rat la graisse ordinaire ne contient que 1 mg. 6 tandis que la graisse spéciale (hibernome) contient 6 mg. 4.

Les cellules déciduales qui sont des cellules conjonctives de la muqueuse utérine transformées peuvent avoir chez la femme un taux appréciable (11 mg.). Les éléments donnent de ce fait une réaction nette au niveau de l'appareil de GOLGI avec le chlorure d'or (TONUTTI et PLATE [186]).

Malgré ces taux relativement faibles, l'importance de l'acide ascorbique paraît considérable pour les divers éléments du tissu conjonctif. On sait depuis longtemps que les premières lésions portent sur l'endothélium des vaisseaux FINDLAY [49], que les altérations dentaires HÖJER, FISH et HARRIS, STINER [95, 51, 179] et osseuses sont caractéristiques. TOZER [187], MOURIQUAND [140].

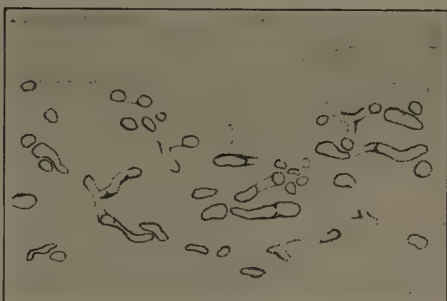


Fig. 33.

Réaction au niveau de la paroi interne des vaisseaux (dans la peau) après injection au nitrate d'argent acide chez le cobaye normal.

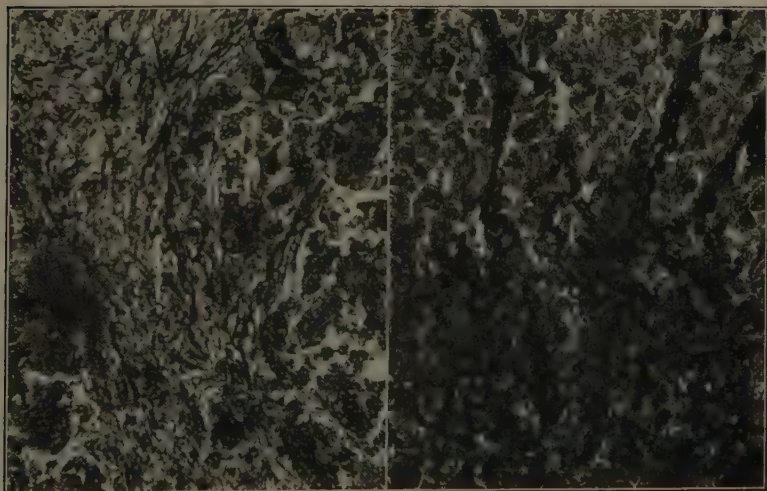


Fig. 34. Différence de la fibrillogenèse dans des granulomes à Kieselsäure chez le cobaye carencé à gauche et chez le cobaye recevant 3 cm³ de jus de citron à droite d'après H. MAZOUÉ.

C'est ce qui amené COWGILL à dire que l'acide ascorbique était véritablement l'élément régulateur des tissus conjonctifs. On sait de plus que la cicatrisation des plaies de la peau et des os est retardée sur les animaux scorbutiques. LAUBER [119], JENEY et KORPASSY [105].

WOLBACH et HOVE [191] ont étudié l'organisation du caillot de fibrine formé à la suite d'une lésion expérimentale de la cuisse: ils concluent que la mobilisation cellulaire est normale mais que les fibres conjonctives ne se forment pas.

H. MAZOUÉ [131] qui a surtout observé l'organisation de la réaction intrapéritonéale à Kieselgur, conclue que chez le cobaye

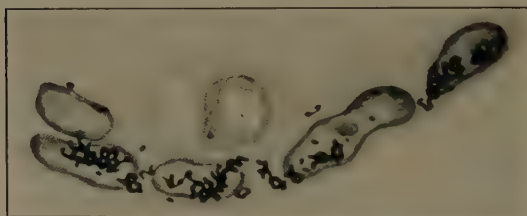


Fig. 35.
Réaction
au chlorure d'or
du syncytium
placentaire
humain d'après
TONUTTI et
PLATE.

carencé l'infiltration leucocytaire, l'organisation des cellules fibrocytaires et surtout des cellules géantes est nettement retardée et que les néoformations fibreuses conjonctives sont dans une très large mesure retardées et diminuées, et que par contre l'apport de petites doses d'acide ascorbique détermine aussitôt la fibrillogenèse.

Placenta. Le placenta a été étudié surtout chez l'homme. D'après CAFFIER et AMMON [24] il ne varie pas beaucoup selon la constitution: le taux moyen serait de 1 mg. à 3,5 (bleu de méthylène) et 5,6 à 25 (dichlorophénol). NEUWEILER [152] admet chez la femme des taux plus élevés: 2,8 à 37,5. CAFFIER donne (Tillmans) 5,34 à 8,84 chez l'homme. D'après AMMON [1] on pourrait admettre un taux moyen de 5 mg.

POLICARD et FERRAND [164—165] estiment la forme oxydée à 4 mg. et la forme réduite à 11 mg. GUGGISBERG [89] trouve de 2,8 à 25.

Histochimiquement avec le chlorure d'or, TONUTTI et PLATE [186] constatent la présence de vitamine dans le syncytium, les cellules du stroma et surtout dans les cellules déciduales. Ils ont vu que ces dernières présentaient une réaction positive au niveau des formations golgiennes et que ces réactions étaient toujours

supérieures à celles des éléments fœtaux. Ils en concluent à un fonctionnement physiologique particulier de ces éléments.

La constitution des placentas est très variable mais quel qu'en soit les types ils ne sont jamais très riches. Nous avons trouvé 30 mg. dans le placenta de cobaye normal (ectoplacenta) 15,5 chez le mouton, 18 mg. chez la vache et 16 mg. chez le rat. Chez la vache selon POLICARD et FERRAND le taux serait de 13 (dichlorophénol) ou de 11 (bleu de méthylène).

Tissus néoplasiques

Il faut également signaler ici le peu que l'on sait sur les tissus néoplasiques. Ce sujet a d'ailleurs soulevé des discussions, les données des différentes méthodes ne paraissant pas concordantes. Selon WATSON et MITOLO [189] ainsi que selon YOUNG et MITOLO [195], la substance réductrice du sarcome du rat ne serait pas du fait de ses propriétés la vitamine C, mais BIERICH et ROSENBOHM [11] pensent que ces objections ne tiennent pas. HARRIS [92] après avoir constaté le pouvoir réducteur des tumeurs sur le dichlorophénol (40 mg. pour le sarcome du rat) ne put constater de prolongation sur la survie des animaux; cependant en utilisant le test des dents, ils ont trouvé que $\frac{1}{3}$ du pouvoir réducteur pourrait être du à l'acide ascorbique.

Par ailleurs BOYLAND [23], sur des cobayes inoculés avec le sarcome de DAEL et BILTRIS a pu voir le taux varier en fonction de l'apport, 15 mg. pour 100 grammes au régime normal, 1 mg., 8 au régime carencé et 11 mg. après injection d'acide ascorbique.

Ces faits sont bien en faveur de la nature ascorbienne de la substance réductrice des tumeurs.

Pour le taux lui-même, il y a aussi des contradictions entre les auteurs. L'adénocarcinome de la souris serait relativement pauvre selon STEPP et SCHROEDER [178]. Au contraire, selon WOODWARD GLADYS [193] le carcinome Walker 256 et le sarcome Philadelphia 1 seraient très riches en acide ascorbique ou en une substance semblable. D'après leur taux, ces tumeurs viendraient de suite après la surrénale. Nous n'avons pas personnellement constaté de taux élevé (6 mg., 7 carcinome mammaire du rat). Chez l'homme, BISKIND [16] a trouvé dans une tumeur ovarienne du type folliculaire 20 mg.; nous n'avons trouvé également que de faibles chiffres (7 mg. cancer du rein).

Tableau du taux sur les divers tissus ou organes du bœuf du cheval, du cobaye et de l'homme. Pour ce dernier sont mentionnés des dosages chiffres personnels et empruntés à divers auteurs :

	Bœuf	
	valeur moyenne	valeurs extrêmes
Derme	0,03	—
Corps muqueux	12,60	9,6— 16
Couche cornée	—	—
Tissu pigmentaire	—	—
Glandes sébacées	15,40	—
Moëlle épinière	6,50	6 — 9
Cerveau subs. blanche	10,1	9 — 12
„ „ grise	15,5	15 — 15,7
„ „ totale	16,61	—
Couche optique	7,10	—
Ganglion rachidien	15	9 — 23
Ganglion sympathique	23,1	10 — 59
Nerf rachidien	4	—
„ sympathique	12	—
„ optique	11,2	6,1— 11,2
Sclérotique	2	1,2— 2
Cristallin	26,4	20,8— 35
Humeur vitrée	8,7	8,7— 10,3
Humeur aqueuse	17,3	17,3— 22,4
Rétine	20	20— 25,2
Glande lacrymale	11,3	—
„ de la nyctitante	9,4	—
Hypophyse totale	126	120 —133
„ lobe ant.	161,1	122,8—181
„ lobe inter.	198	179 —223,6
„ lobe post.	—	—
„ lobe nerveux	61	53,4— 72
Epiphyse	22,7	20,8— 24,5
Surrénale totale	133	90 —191
„ cortex	149	93 —214
„ médullaire	94	53 —162
Thyroïde	17	10 — 19,4
Parathyroïde	45,7	—
Testicule	30	21,3— 40,8

1. JAWORSKY, ALMADEN et KING [104]. — 2. PLAUT et BÜLOW [162]. — 3. GIROUD [78—79]. — 4. LEY [123]. — 5. POLICARD et FERRAND [165]. — 6. ZIMMET et DUBOIS-FERRIÈRE [197]. — 7. CLAYTON et KEITH [32].

Cheval		Cobaye		Hommes d'après divers auteurs	
valeur moyenne	valeurs extrêmes	normal	carencé		
2,52	1,2— 4	—	—	—	—
12,80	7,6— 16,7	—	—	—	—
1,30	—	—	—	—	—
10,30	9 — 12	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—
13,8	—	—	—	—	—
12	10,5— 12,8	—	—	—	—
17	14,7— 19,3	—	—	—	—
19	16,8— 20	15,7	3,8	22,8 [1]	7 [3]
1	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—
12	—	—	—	—	—
5,5	—	—	—	—	—
34	—	—	—	31 [1]	—
11	11 — 20,4	—	—	—	—
28	—	—	—	12 [1]	—
12,8	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—
136	120,4—151,6	138,5	39	16,8 [2]	34,9 [3]
153,8	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—
65	64,7— 65	—	—	—	—
36,9	20,7— 52	—	—	10,8 [2]	—
197,9	130 — 271	120,4	6,3	36,3 [1]	19,7 [3]
192	166 — 241	—	—	—	—
144,1	125 — 174,6	—	—	—	—
18,2	11,3— 23,7	—	—	—	—
44	40 — 49	—	—	—	—
49	46 — 52,2	—	—	—	—

	Bœuf	
	valeur moyenne	valeurs extrêmes
Cellules génitales	31,5	—
Spermatozoïdes (épididyme)	19,6	12,3— 27
Ovaire sans corps jaune	20,5	9,7— 48
Corps jaune	113,9	26 —171,6
Ovaire avec corps jaune	58,8	40 — 74,4
Ligt. folliculaire	1,5	0,9— 2,5
Prostate	20,2	—
Utérus musculoux	18,3	—
„ total	7,7	2,5— 12,9
„ muqueux	13,7	—
Mamelle	5	—
Placenta	18	—
Oesophage total	3,4	—
Estomac total	6,3	4 — 8,7
„ muqueux	—	—
„ musculoux	—	—
Intestin grêle total	16	12,4— 16
„ muqueux	18,9	—
„ musculoux	5,9	—
„ gros	7	—
„ total	7,3	5,9— 16
„ muqueux	6,3	—
„ musculoux	2,2	—
Foie	29	19,3— 36
Pancréas	9,3	7 — 11
Parotide	7,7	4,5— 7,7
Sous-maxillaire	6,2	5 — 9
Glande sublinguale	—	—
Rein total	10,8	7,4— 14,8
„ cortex	11,6	9,2— 14
„ médullaire	8	7,6— 8
Vessie totale	4,8	—
„ muqueuse	2,3	—
„ musculouse	4,3	—
Amygdale	34	—
Artère	2	—
Veine	1,3	—
Sang	0,2	—
Gang. lymphatique	51	22 — 71,8

valeur moyenne	Cheval		Cobaye		Hommes d'après divers auteurs	
	valeurs extrêmes		normal	carencé		
27	—		—	—	—	—
10,75	10 — 11,5		—	—	—	—
47	30,9 — 63,5		—	—	11,8 [4]	—
73	41,81		—	—	20 [5]	57,7 [4]
—	—		—	—	—	—
1,6	—		—	—	—	—
11,9	6 — 17		—	—	—	—
5,1	—		—	—	—	—
5	—		—	—	—	—
7,2	—		—	—	—	—
1,8	—		—	—	—	—
—	—		30	—	—	—
2,3	—		—	—	—	—
6,6	6,1 — 8		—	—	—	—
7,9	5,4 — 10,4		—	—	—	—
4,5	4,2 — 4,8		—	—	—	—
17,3	—		—	—	—	—
—	—		—	—	—	—
—	—		—	—	—	—
6	—		—	—	—	—
6,1	—		—	—	—	—
—	—		—	—	—	—
—	—		—	—	—	—
20,3	13,8 — 28,3		28,6	3,3	11,2 [1]	7,7 [3]
25,9	24 — 27,8		21,9	5	14,6 [1]	3,7 [3]
102,1	51 — 161		—	—	—	—
12,5	10 — 15		—	—	—	—
12,3	—		—	—	—	—
11	6,3 — 14,1		11	3	7,7 [1]	3,6 [3]
9,9	8,4 — 14		—	—	—	—
9,9	7,5 — 11,8		—	—	—	—
5,4	—		—	—	—	—
21,7	—		—	—	—	—
5,7	—		—	—	—	—
—	—		—	—	22,5 [6]	24 [7]
—	—		—	—	—	—
—	—		—	—	—	—
0,7	—		—	—	—	—
45	33 — 56		50,4	5,1	—	—

	Bœuf	
	valeur moyenne	valeurs extrêmes
Moëlle osseuse jaune.	2,4	—
Moëlle osseuse rouge.	11,4	—
Rate	27,5	21,7— 30,3
Thymus amygdale	65	50 — 86
Appareil respiratoire	—	—
Poumon	18,2	15,3— 21,2
Muscle squelettique	1,6	0,7— 2
„ cardiaque	3,8	—
„ lisse	—	—
„ estomac	6,3	4 — 8,7
„ intestin	6,2	—
„ vessie	4,3	—
„ utérus	18,3	—
Graisse cutanée	0,8	0,2— 1
„ de rein	0,6	—
Tissu conj. derme	0,3	—
Tendon	1,3	—
Ligament élastique	4,4	—
Os	—	—
Cartilage	—	—
Synovie	—	—

Généralité du taux des tissus et des organes

TAUX NORMAL

Chez tous les organismes qui synthétisent l'acide ascorbique, c'est-à-dire l'immense majorité, le taux de chaque tissu et par suite de chaque organe, oscille dans des limites assez étroites. Ainsi chez le bœuf, le taux surrénalien oscille entre 100,4 et 157 (moyenne 128,16), le taux hépatique oscille entre 19,3 et 36 (moyenne 26, 38).

D'une espèce à une autre, d'un groupe de mammifères à un autre et même bien au-delà, le taux des tissus comme des organes est assez constant (les espèces carençables mises à part).

valeur moyenne	Cheval	Cobaye		Hommes	
	valeurs extrêmes	normal	carencé	d'après divers auteurs	
2,2	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—
29,4	25,2— 32,6	40,9	2,5	11,5 [1]	15 [3]
—	—	—	—	9,8 [1]	—
—	—	—	—	—	—
17,6	15,6— 19,5	—	—	5,5 [1]	1,7 [3]
1,2	—	—	—	—	—
3,3	2,3— 6,1	8,4	2,9	3,3 [1]	2,6 [3]
—	—	—	—	—	—
6,6	6,1— 8	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—
5,7	—	—	—	—	—
5,1	—	—	—	—	—
0,5	0,4— 1,8	—	—	—	—
1,8	0,5— 3,8	—	—	—	—
2	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—
6	5 — 6,4	—	—	—	—
2	—	—	—	—	—
0,56	—	—	—	—	—

On voit en particulier par le tableau suivant, que pour chaque organe, les chiffres sont à peu près les mêmes, quelle que soit l'espèce animale envisagée. En moyenne, ce serait 158 pour la surrénale, 24,5 pour le foie, et 13 pour le rein, 2 pour le muscle, etc. Cette constance se retrouve d'ailleurs avec les autres organes comme avec tous les tissus.

Ce qui est très important, c'est que ces taux tissulaires ou organiques sont très généraux. On les retrouve avec une constance remarquable à quelque espèce de mammifère que l'on s'adresse. Cette même caractéristique se retrouverait encore en passant à d'autres vertébrés (oiseaux) et même au-delà.

Taux de l'acide ascorbique chez divers mammifères
en milligrammes pour 100 gr.

	Surrénale	Foie	Rein
Lapin domestique	207	17,2	10,2
Lapin garenne	268	27	14
Lièvre	207	24,5	13,5
Rat	294,7	23,6	14,7
Souris	143,8	33,6	17,4
Mulot	130	40,3	13,7
Lérot	132	29,4	8,8
Ecureuil	158	23	15,5
Cheval	197,9	20,3	10,2
Mulet	166	17,7	9,6
Ane	146	19,8	11
Eléphant	109,4	21	5
Hippopotame	108,7	20	9
Porc	175,7	25,8	10,5
Lama	151	28	4,2
Bœuf	133	29	10,8
Mouton	104,5	20,6	10,9
Bouc	152,8	26,3	12,4
Chevreuril	132	18	14
Chat	111,7	18	16,7
Chien	143,7	26	13,8
Furet	165	34	24,6
Putois	169,1	27,1	11,4
Renard	119,1	26,3	8
Blaireau	190,3	16	6,8
Hérisson	181	19,1	10,5
Taupe	120	43	15
Rhinolophe	113,8	21,8	12,3
Oreillard	139,2	18,4	24,9

On doit donc considérer les valeurs observées comme celles des autres constituants tissulaires fondamentaux; on doit regarder chacune d'elles comme une valeur normale; un *taux normal* (GIROUD et LEBLOND) (1935) [65 bis 66] et qui doit être réalisé par l'organisme carenable.

Variations du taux des tissus et des organes

Alimentation. Bien que le taux de chaque organe, le taux de chaque tissu soit assez fixe et assez spécifique de chacun d'eux, cela n'exclue pas certaines variations de causes diverses. La

principale cause est l'alimentation. Chez l'animal qui synthétise l'acide ascorbique, elle n'a qu'une influence médiocre, on ne constate que de légères variations du taux comme MOSONYI [137] l'a en particulier constaté. Elles portent surtout sur le foie et le rein: c'est-à-dire des organes qui jouent un rôle important dans la circulation de l'acide ascorbique.

Pour les organismes carençables, (hommes, singes, cobayes) il en va tout autrement. La teneur des divers organes n'est comparable à celles des autres animaux qu'avec une alimentation suffisamment riche. En dehors d'elle, cette teneur varie d'une façon considérable. Elle peut passer de 1 à 50. La charge vitaminique est en effet instable; dès que l'on supprime l'apport normal le taux de tous les organes s'effondre très vite.

La réaction au nitrate d'argent diminue et disparaît. Chimiquement, cette chute peut facilement être étudiée de CARO [26], GIROUD et LEBLOND [78], MARTINI et BONSIGNORE [129].

En pleine carence le taux de tous les tissus et de tous les organes est très bas (dichlorophénol) (voir page 77 et 81) si même il n'est pas à zéro (BEZSSONOFF, MARTINI et BONSIGNORE)¹⁾.

Pour réaliser dans l'organisme carençable le taux normal qui doit être réalisé, car vraisemblablement ce taux seul correspond à un fonctionnement physiologique normal, il faut un apport considérable de vitamine. Chez l'homme dont l'alimentation n'est pas toujours riche on conçoit par suite que les taux réalisés soient peu élevés (voir tableau pages 55—59) et que par suite l'on puisse parler d'hypovitaminose ou de déficience.

Variations hormonales. Depuis longtemps on avait signalé l'influence de la thyroïde sur l'évolution du scorbut (MOURIQUAND, MICHEL et SANYAS [139]). En nourrissant des animaux avec de la thyroïde SVIRBELY [182] a constaté que l'acide ascorbique baisse au fur et à mesure que l'activité du métabolisme s'accroît. Selon MARTINI et BONSIGNORE [129] l'a. ascorbique diminue tandis que l'acide déhydroascorbique augmente après injection de thyroxine. D'après MOSONYI [137] le taux du foie et surtout celui de la surrénale diminue chez le cobaye: cette action pourrait être inhibée par la vitamine A.

¹⁾ Le bleu de méthylène paraît donner 0, les petites valeurs trouvées au dichlorophénol correspondent peut-être à un autre corps réducteur: voir page 8.

NESPOR [151] observe également une chute du taux sous l'action de l'hormone thyroïdienne. PAAL et BRECHT ont fait les mêmes constatations. PLAUT et BÜLOW [161] constatent aussi une baisse considérable dans la surrénale et nette dans la rate: selon eux elle serait insignifiante au niveau du testicule et surtout du cerveau.

L'action des hormones génitales est très nette. Certaines observations peuvent le laisser prévoir. MOSONYI [137] a montré que l'injection d'hormones sexuelles a une action manifeste: la folliculine, l'hormone mâle font baisser le taux. Par ailleurs nos dosages sur un grand nombre d'espèces révèlent des différences entre les deux sexes. Les femelles ont toujours un taux plus élevé que les mâles (GIROUD [79]). Voici quelques chiffres moyens.

	surrénale		foie		rein	
	mâle	femelle	mâle	femelle	mâle	femelle
cobaye .	119	141	32	34	12	13
souris. .	99	157	31	38	17	17
chat . .	82	120	11	11	5	9
cheval .	198	261	20	21	10	11
chien . .	124	142	24	30	10	11
hérisson.	168	201	12	20	9	11

Il y a peut-être de se demander si ces variations ne se retrouveraient pas jusque dans le monde végétal. Les observations de SATINA et BLAKESLEE [174 bis] ont constaté un pouvoir réducteur plus grand des extraits de feuilles femelles semblent l'indiquer.

Age. Il existe une variation manifeste en fonction de l'âge. BESSEY et KING [6] ont observé une baisse du taux de divers organes entre le jeune âge et l'état adulte chez le rat et le lapin.

	rat		lapin	
	75 jours	1 an	60 jours	1 an
cerveau	36 mg.	37 mg.	31 mg.	22 mg.
foie	27 mg.	17 mg.	20 mg.	13 mg.
rein	17 mg.	14 mg.	12 mg.	7 mg.
cœur	12 mg.	7 mg.	10 mg.	5 mg.

Au niveau du système nerveux EULER et KLUSSMANN [41] (bœuf), PLAUT et BÜLOW [161] lapin et souris, MELKA [132] rat

ont constaté une baisse avec l'âge. Il en serait de même pour BIERICH et ROSENBOHM [11].

Ces variations ont été observées aussi sur l'homme de la naissance jusqu'à la vieillesse (JAWORSKY, ALMADEN et KING [104]).

âge taux de surrénale en mg. pour 100 gr.	âge taux en mg. pour 100 gr.
de 1 à 30 jours 58,1	de 11 à 45 ans 39,3
de 1 à 12 mois 52,5	de 46 à 77 ans 23
de 1 à 10 ans 55	

On les retrouve même depuis la vie foetale. (GIROUD, RATSI-MAMANGA, RABINOWICZ, SANTOS RUIZ et I. CESA [72], GIROUD [79]).

	foetus 4 mois	nouveau-né	enfant	adulte	vieillard
surr. . . .	182 mg.	70 mg.	50 mg.	40 mg.	10 mg.
foie	26 mg.	16 mg.	20 mg.	15 mg.	4 mg.
rein	35 mg.	10 mg.	7 mg.	5 mg.	3 mg.

Dans les liquides ou humeurs de l'organisme, on retrouve la même évolution. C'est ce qu'ont en particulier bien observé MARINESCO, ALEXIANU-BUTTU et OLTÉANU [128] pour le liquide céphalo-rachidien. Le tableau ci-dessous en résume les variations avec l'âge.

âge ac. asc. en mg. par litre	âge ac. asc. en mg. par litre
jusqu' à 10 ans 28—22	40—50 ans 8—6
10—20 ans 22—14	50—60 ans 6—4
20—30 ans 14—11	60—70 ans 4—3
30—40 ans 11—8	après 70 ans 3—2

ROHMER, BEZSSONOFF et STOERR [173] étudiant aussi les variations du taux céphalo-rachidien chez les prématurés et les nouveaux-nés normaux ont constaté des faits identiques. De 27 mg. par litre chez les prématurés, le taux passe à 14 mg. chez le nouveau-né normal.

L'ensemble des faits est complexe surtout si l'on envisage l'évolution au cours de toute la vie. L'apparition de la différenciation cellulaire qui permet l'établissement d'un taux fonc-

tionnel, joue au début un rôle prépondérant. C'est ce qui explique que souvent le taux puisse s'élever pendant le cours de la période embryonnaire comme l'ont observé GLICK et BISKIND [81, 84, 85] en particulier pour la surrénale et l'épiphyse.

A l'opposé, le développement des tissus fibreux avec l'âge peut modifier aussi la composition des organes. Pour certains organes cette évolution est très précoce c'est ce qu'a bien dissocié GLICK et BISKIND [83] pour l'évolution du taux du thymus: ses variations après correction de la part due au tissu conjonctif et adipeux deviennent nulles.

Mais ces facteurs dont on doit tenir compte, ne permettent pas en tout cas à eux seuls d'expliquer ces phénomènes d'évolution que beaucoup d'auteurs ont constaté.

Nombre d'explications peuvent être recherchées, mais une interprétation paraît d'abord s'imposer: cette variation ne correspond elle pas simplement à l'évolution des capacités générales de synthèse ou de croissance de l'organisme. Bien des faits (voir page 152) révèlent par ailleurs que l'acide est un des importants facteurs de croissance.

Facteurs pathologiques. Enfin il faut dire un mot des facteurs pathologiques qui jouent un grand rôle dans le taux de l'acide ascorbique. Les faits sont bien nets, qu'il s'agisse d'infection ou d'intoxication (toxine). Ils sont particulièrement évidents, dans bien des cas, au niveau des surrénales: CARDOSO [25], MOURIQUAND, SEDELLIAN et COEUR [143], Miss HARDE [91], NUZZI [154], LYMAN et KING [126].

Comme on l'a vu antérieurement, l'évolution tumorale d'un tissu ne paraît pas déterminer des modifications considérables. Par contre dans certains tissus, les transformations pathologiques s'accompagnent de modifications marquées. Le cas du cristallin cataracté en est un bel exemple.

Le cristallin, au cours de la cataracte, perd progressivement son acide ascorbique MUELLER [146], B. NAKAMURA et O. NAKAMURA [147], BELLOW [4], EULER et MALMBERG [44] comme d'ailleurs des autres substances oxydo-réductrices (SH, flavine). Il en résulterait une élévation du potentiel d'oxydo-réduction d'après REISS et NORDMANN [171].

L'évolution normale des cellules épidermiques qui perdent leur acide ascorbique plus ou moins totalement au cours de leur kératinisation est un phénomène analogue.

Les observations de WATSON et MITOLO, entre autres, montrent que la nécrose dans les tumeurs détermine une diminution des valeurs très caractéristiques (6 et 11,9 mg. avec nécrose — 14,5 et 16 sans nécrose).

CONSIDÉRATIONS PHYSIOLOGIQUES

Synthèse, apport externe, carence.

L'a. ascorbique se trouve donc dans tous les tissus et dans toutes les cellules de l'organisme. Il peut s'y rencontrer à des concentrations très diverses selon chacun d'eux mais il ne fait jamais défaut. Sa présence est donc générale. Il doit en être de même de sa signification.

On a envisagé son origine locale au niveau de la surrénale; mais les expériences n'ont pas confirmé cette hypothèse, et plus récemment on l'a envisagée au niveau du corps jaune (BOURNE [21 bis], NESPOR [151]). Il semble qu'il peut se former dans toutes les cellules vivantes et peut-être aux dépens des sucres (voir page 146) mais cela n'est pas démontré.

Du moins c'est le fait général: car presque tous les animaux synthétisent l'acide ascorbique. Pour eux cette substance est un des éléments constitutifs de l'organisme, un élément essentiel du métabolisme, mais ne constitue pas une vitamine. Cette synthèse a été expérimentalement prouvée pour le rat par PARSON, LEPKOWSKI, NELSON, et pour le poussin par HAUGE et CARRICK. La stabilité des taux en dépit des régimes souvent pauvres en vitamine C chez l'immense majorité des animaux révèle cette même capacité de synthèse. Les seules exceptions connues sont l'homme, les singes, le cobaye. Pour ces espèces, l'acide ascorbique constitue une vitamine, le facteur antiscorbutique ou vitamine C. Pour eux, l'apport de cette substance est absolument nécessaire: à cet égard d'ailleurs, leurs besoins ne sont pas comparables; les besoins des cobayes paraissant très supérieurs à ceux de l'homme ou du singe.

La présence constante de l'acide ascorbique dans les tissus incite à admettre l'importance et de la généralité du rôle qu'il doit jouer. De fait, la carence accidentelle ou expérimentale démontre, chez l'homme, le singe et le cobaye, que l'organisme ne peut se passer de cette substance.

La suppression totale de la vitamine C détermine chez ceux ci, comme l'on sait, le scorbut aigu qui se termine par la mort et qui

est caractérisé surtout par des altérations des capillaires s'accompagnant d'hémorragies, de lésions dentaires et osseuses.

Dans les premières de ces lésions d'ailleurs, interviennent probablement d'autres carences et en particulier la carence en vitamine P (SZENT-GYÖRGYI, BENSATH, ARMENTANO et RUSZNYAK [4 bis et 174 bis]).

La suppression quasi-totale (doses très faibles) détermine l'évolution du scorbut chronique dans lequel les lésions osseuses et articulaires prédominent.

Avec des doses plus fortes, mais toujours insuffisantes, ces lésions ne se développent point, mais il existe des troubles fonc-

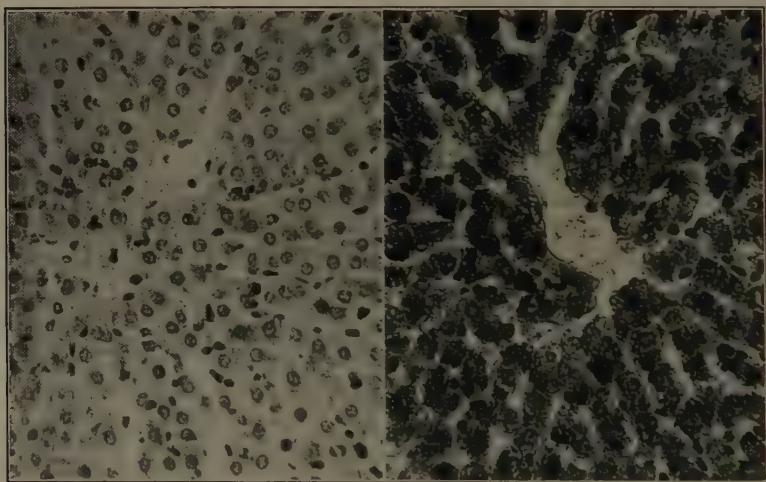


Fig. 36. Différence de teneur en glycogène (carmin de BEST) chez le cobaye au régime Randin sans acide ascorbique à gauche, et au même régime + 30 mg. d'acide ascorbique à droite, d'après RATSIMAMANGA.

tionnels en particulier portant sur la reproduction et sur lesquels nous reviendrons (voir page 100).

Avec ces doses et même avec de plus importantes, tant que l'état normal n'est pas réalisé, on observe, entre autres des modifications du métabolisme glucidique. Il semble en effet, comme le montrent les recherches de STEPP, SCHROEDER, D'ALTENBURGER et surtout de RATSIMAMANGA, que l'évolution des glucides et celle de l'acide lactique dépendent à un haut degré de l'acide ascorbique.

Les variations de la glycogénèse sont particulièrement manifestes (RANDOIN et MICHAUX, ALTENBURGER [1]. La teneur du foie en glycogène augmente proportionnellement au taux d'acide ascorbique (RATSIMAMANGA [168])).

Relation avec le potentiel d'oxydo-réduction cellulaire.

Une des premières hypothèses qui vient à l'esprit c'est qu'il contribue à déterminer le potentiel d'oxydo-réduction des tissus. Cette question a déjà fait l'objet de nombre de recherches qui malheureusement n'ont pas toujours été poussées jusqu'à l'échelle cellulaire, si même cette échelle est suffisante.

Elles s'étendent depuis les premières notions de variations dans les pouvoirs de réduction ou d'oxydation jusqu'à leur précision par de véritables mesures exprimées en unités rH (logarithme de l'inverse de la pression d'hydrogène théoriquement en équilibre avec un système d'oxydo-réduction donné).

EHRLICH (1885) [38] avait déjà vu que les divers tissus ne se comportaient pas de la même façon après injection intra-jugulaire de colorants plus ou moins réductibles. Il avait vu que certains tissus ne réduisaient même pas le bleu d'indophénol (substance grise nerveuse, cœur, certaines coupes de muscles, cortex du rein) que d'autres réduisaient l'indophénol mais pas le bleu d'alizarine (la plupart des muscles, les muscles lisses, les glandes, le tissu conjonctif), que d'autres enfin réduisaient même le bleu d'alizarine (poumons, foie, tissu graisseux, muqueuse stomacale).

AUBEL et WURMSER (1929) [3] ont répété ces expériences avec des colorants à potentiels bien définis (2—6 dibromo-indophénol et bleu de Nil). Ils ont précisé les valeurs suivantes pour quelques tissus :

rate; pancréas, intestin, estomac	rH limite 16 à 20
muscle et rein	rH limite 14 à 16
substances grises du cerveau et du foie	rH limite 9 environ.

AUBEL et R. LEVY [2] ont trouvé par injection de colorants chez une chenille *Galleria mellonella* et une larve de mouche *Phormia regina* un rH limite voisin de 20 en aérobiose et de 7 en anaérobiose.

Récemment KRASSINSKY [118] sur des jus de presse de quelques végétaux a mesuré le rH. Il observe des oscillations autour de 17 (de 15,5 à 20,9).

D. et J. NEEDHAM [148—150] ont recherché la valeur absolue du potentiel d'oxydo-réduction des cellules elles-mêmes. Pour cela, ils ont micro-injecté dans la cellule des indicateurs, de la série de CLARK, de plus en plus difficilement réductibles jusqu'à ce que l'un d'eux ne subisse qu'une décoloration partielle. Ayant ensuite déterminé le pH, ils ont pu estimer le rH entre 17 et 19 pour *Amoeba proteus* et entre 19 et 22 pour une série d'œufs d'Echinodermes, de Tuniciers; entre 19 et 20 en atmosphère normale et entre 9,5 et 10,5 en atmosphère d'azote pour un protozoaire anaérobie *Nyctotherus cordiformis*.

L. RAPKINE et R. WURMSER [169] ont déterminé par micro-injection le pH et le rH du cytoplasma et du noyau des cellules de la glande salivaire de *Chironomus* et de celle de la larve de *Calliphora erythrocephala*, des ovocytes de *Paracentrotus lividus* et d'*Asterias rubens*. Le pH est compris entre 7,4 et 7.

Le sel de Na de l'acide indophénol, naphthol 2 sulfonique, injecté dans un tampon à pH 7,2, reste coloré dans le noyau et le cytoplasma; l'indophénol 2,6, dibromophénol est décoloré dans les deux éléments; le m-bromophénol indophénol également. Le mono et le disulfonate d'indigo restent complètement colorés. Ils en concluent que le rH est situé entre 19 et 20,4 pour le noyau comme pour le cytoplasma.

Dans les cellules végétales M. BROOKS d'une part et RAPKINE et WURMSER d'autre part ont trouvé un rH de 17—14 (valeurs correspondant probablement aux vacuoles; voir page 105).

M. PARAT au cours de ses recherches sur la morphologie et la physiologie du cytoplasme a effectué des essais de coloration vitale et de micro-injection sur les cellules chordoïdes de *Spirographis*. La coloration vitale effectuée avec le bleu de Crésyl, le bleu de Nil, le bleu de Méthylène, le vert Janus montre que normalement tous, sauf le dernier sont réduits par le cytoplasme et le chondriome et qu'ils sont réoxydés dans les vacuoles.

Le bleu de méthylène micro-injecté, est réduit dans le cytoplasme, mais au bout d'un certain temps il passe dans les vacuoles où il est réoxydé. Le trisulfonate d'indigo micro-injecté dans le cytoplasme est réduit; mais le disulfonate d'indigo ne l'est pas. En atmosphère d'azote le disulfonate lui-même serait réduit.

Dans les vacuoles des grandes cellules chordoïdes, en atmosphère d'azote, le bleu de Méthylène injecté réduit le reste; du bleu de Méthylène normal ne paraît pas se réduire dans les

mêmes conditions. Par contre le bleu réduit s'oxyde en atmosphère normale, il en est de même de l'acide indophénol 1 naphtol, 2 sulfonique.

PARAT en conclut que le cytoplasme montre un rH plus petit que 12 et même plus petit que 8 en atmosphère d'azote, qu'en atmosphère normale il présente un rH plus petit que 12 mais plus grand que 9; entre lame et lamelle et après oxygénation, la coloration diffuse par le bleu de méthylène indique un rH plus grand que 12, peut-être plus élevé que 14. Les vacuoles sous azote présentent un rH plus petit que 12, en atmosphère normale elles montrent un rH plus grand que 16. Dans son ensemble, le cytoplasme et le chondriome sont réducteurs, le vacuome est oxydant.

JOYET LAVERGNE a étudié les différences de potentiel d'oxydo-réduction (plus exactement le potentiel limite) entre le protoplasma mâle et femelle.

Il a utilisé pour cela comme colorants vitaux les réactifs suivants soit à l'état normal soit à l'état de leucodérivés: bleu de méthylène, bleu de nil, violet neutre, bleu de crésyl, thionine, vert Janus, violet dahlia, rouge neutre, safranine. Ses recherches ont porté sur des Protozoaires, des spores d'Equisetum, des organes sexuels de Phanérogames. Il en conclut que le potentiel d'oxydo-réduction intracellulaire est un caractère de sexualisation du cytoplasme, et que, dans une espèce donnée les cellules polarisées dans le sens femelle ont un rH inférieur à celui des cellules polarisées dans le sens mâle.

WURMSER et de LOUREIRO [194 bis] ont émis l'idée que l'on pouvait rattacher le potentiel tissulaire d'oxydo-réduction à l'acide ascorbique. REISS et NORDMANN l'ont fait.

Ces auteurs ont mesuré le potentiel du cristallin sur ce tissu en place (sur le vivant) en y introduisant une électrode de platine. Lors de la mise en place de cette électrode, le potentiel évolue pendant un certain temps (quelques minutes). Ensuite le potentiel reste stable à des chiffres qui sont en moyenne pour le lapin de + 93 millivolts, pour le chien de + 91 millivolts, pour le cobaye normal de + 68 millivolts. La moyenne générale est ainsi de + 87 millivolts. Chez un jeune homme, ils ont trouvé + 93 millivolts.

Le pH du cristallin normal étant de 7,5 ces chiffres correspondent à un rH = 18.

En étudiant le cristallin cataracté (lapins, chiens et hommes) le plateau de la courbe de potentiel en fonction du temps s'installe vite et se maintient à quelques petites oscillations près.

Chez le lapin où l'opacification du cristallin a été produite expérimentalement par ingestion de naphthaline et au stade de cataracte constituée, ils ont obtenu une moyenne de $+161$ millivolts.

Au stade préliminaire à l'apparition de la cataracte consistant dans l'apparition de fentes claires dans le cristallin, ils ont trouvé seulement un potentiel de $+150$ millivolts.

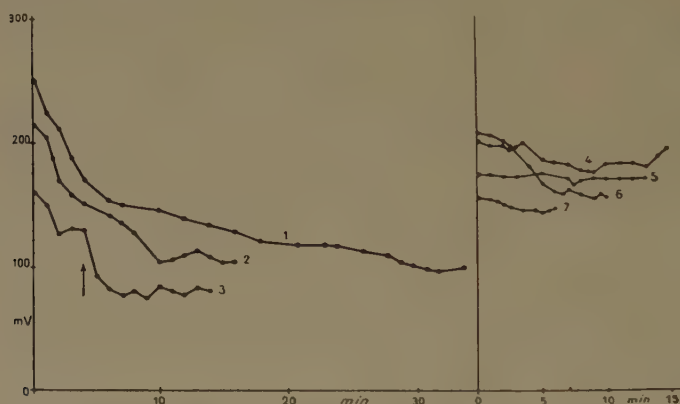


Fig. 37. Etablissement du potentiel d'une électrode de platine dans le cristallin : en abscisses le temps en minutes; en ordonnées les potentiels en millivolts. L'origine des temps est la pénétration de l'électrode dans le cristallin, sauf pour la courbe 3 où l'électrode séjourne d'abord dans la chambre antérieure, la flèche indique la pénétration dans le cristallin. A gauche, cristallins normaux. A droite, cristallins cataractés: 4 = cataracte naphthalinique du Lapin, 5 = cataracte par massage du Lapin, 6 et 7 = cataractes séniles du Chien et de l'Homme. D'après P. REISS et J. NORDMANN.

Chez l'homme, les mesures ont porté sur différents types cliniques de cataracte. Une cataracte zonulaire acquise a donné en huit minutes des mesures qui semblent localiser le plateau de potentiel à $+167$ millivolts. Dans une cataracte compliquée mûre, l'équilibre s'est installé à $+165$ millivolts et dans une cataracte sénile à $+163$ millivolts.

Tous les potentiels de platine du cristallin cataracté sont donc nettement plus élevés que ceux du cristallin normal. La moyenne de toutes les expériences dans lesquelles le cristallin est

atteint s'établit à + 166 millivolts contre + 87 millivolts pour le cristallin normal. En admettant que le pH du cristallin cataracté ne soit pas différent de la valeur 7,5 du cristallin normal, et certaines expériences paraissent autoriser cette hypothèse, le cristallin cataracté aurait donc un $rH = 20,6$ au lieu de 18 comme le cristallin normal.

Ils ont de plus recherché, en utilisant la technique déjà utilisée par REISS et ROCHE [170], le pouvoir tampon du cristallin: l'expérience en est représentée figure 38.

Il ressort de l'ensemble de leurs résultats que le pouvoir tampon d'oxydation-réduction du cristallin est très marqué

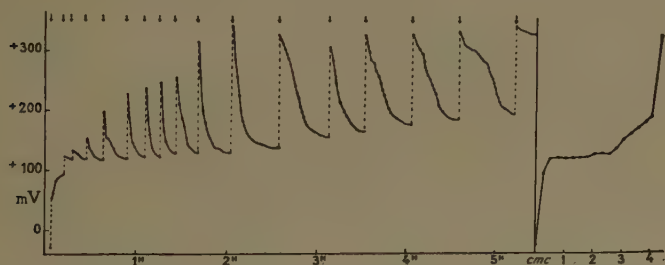


Fig. 38. Courbe du pouvoir tampon d'oxydation-réduction du cristallin normal (obtenue dans l'azote après réduction préalable. A gauche, le potentiel en mV en fonction du temps; chaque flèche indique l'addition de 0,25 cc de ferricyanure de K à 1^o/₁₀₀.

A droite, les potentiels d'équilibre en mV en fonction de la quantité totale de réactif ajouté. D'après P. REISS et J. NORDMANN.

entre + 165 et + 120 millivolts. C'est à + 150 ou à + 130 millivolts que le plateau se trouve le plus souvent. Il est toujours nettement plus élevé que le potentiel de platine du cristallin vivant. Dans la cataracte naphthalinique, même lorsque toutes les couches du cristallin sont opaques, le pouvoir-tampon d'oxydation-réduction reste conservé; par contre il est aboli ou au moins altéré dans la cataracte sénile humaine.

D'après ces auteurs le pouvoir-tampon d'oxydo-réduction n'est pas dû aux groupements SH puisque le niveau ne correspond ni au potentiel de la cystéine, ni à celui du glutathion. Il se rapproche au contraire selon eux de celui que WURMSER et LOUREIRO [194] ont trouvé pour l'équilibre d'oxydo-réduction de l'acide ascorbique, qui à pH 7 serait à + 78 millivolts, $rH = 16,2$.

L'interprétation du cas des cataractes étant très complexe puisque toute une série d'éléments disparaissent plus ou moins simultanément: a. ascorbique, glutathion, flavine-ferment, REISS et NORDMANN ont étudié des cas plus simples où seul variait l'acide ascorbique tel que la carence C chez le cobaye. Les essais effectués sur des cristallins de ces animaux carencés leur ont révélé un potentiel plus élevé.

BEZSSONOFF, J. NORDMANN, P. REISS (1936) [10] ont repris ensemble cette expérience. Ils ont étudié avec soin l'évolution du rH par suppression de l'a. ascorbique chez le cobaye.

Chez le cobaye de l'élevage, ils ont trouvé dans le cristallin un potentiel de + 100 millivolts. Au régime Randoïn complété par 1 à 4 mg. de vitamine C la moyenne est de + 113 millivolts. Au bout de 4 jours de carence, le potentiel s'élève à + 125 millivolts, entre le 5⁰ et le 15⁰ jour, il atteint + 147 millivolts.

La montée de potentiel va donc de pair avec la disparition de la vitamine¹⁾.

Tous ces faits paraissent bien indiquer que le potentiel d'oxydo-réduction des tissus dépend avant tout de l'acide ascorbique²⁾. A son tour nombre de processus peuvent dépendre de ce potentiel: les faits auxquels nous ferons plus loin allusion (production de certaines hormones) en dépendent peut-être.

Intervention dans les processus physiologiques généraux et réactions élémentaires.

La distribution générale de l'acide ascorbique dans toutes les cellules et tous les tissus rend possible son intervention dans les processus généraux. Les faits expérimentaux donnent des bases précises à cette hypothèse.

Certains faits permettent de croire qu'il jouerait un rôle dans les processus respiratoires. D'après HÖJER [95 bis] en effet, la consommation de l'oxygène des tissus d'un animal scorbutique mesurée par la méthode de WARBURG, serait très diminuée. D'après HARRISSON, l'adjonction d'acide ascorbique au tissu

¹⁾ Signalons qu'en pratique les faits apparaissent plus complexes et qu'en particulier le niveau du potentiel et son évolution n'est pas le même suivant le régime de base. (régime Randoïn ou régime Bezssonoff.)

²⁾ Par contre le potentiel limite (+ 50 m. V.) estimé d'après le potentiel du colorant le moins réductible réduit seulement au bout d'un certain temps, correspondrait au potentiel de la protéo-flavine.

hépatique d'un animal carencé déterminerait une augmentation de consommation d'oxygène de 5 à 57%. D'autre part, QUASTEL et WHEATLEY [167] ont observé l'augmentation de l'oxydation des acides gras dans les tranches de foie par addition d'a. ascorbique.

Selon SZENT-GYÖRGYI, l'a. ascorbique fonctionnerait comme transporteur d'hydrogène. Son oxydation au départ de O^2 serait assurée par une hexoxydase qu'il a isolé de la cortico-surrénale et de la feuille de chou. TAUBER et KLEINER ont récemment isolé une oxydase de *Cucurbita maxima* qui serait spécifique. Une telle oxydase est probablement générale. WACHHOLDER, PODESTA et BRUSS en ont extrait des divers types de muscles. Elle est particulièrement abondante ou active au niveau du myocarde. Inversement il existe des éléments réducteurs. L'a. déhydro-ascorbique par les suspensions de nombreux tissus. Le glutathion ou les composés à fonction SH en seraient la cause (SCHULTZE M. O., STOTZ E. et KING C. G.)¹⁾.

Selon un travail de HELLSTRÖM cité par VON EULER [45—46] l'acide ascorbique réduit le cytochrome C purifié dans un tampon phosphatique à pH = 7.

LEMBERG, CORTIS-JONES et NORRIE [121] ont montré que le ferri-hémo-chromogène oxyde l'a. ascorbique tandis que le ferro-chromogène est oxydé par l'oxygène moléculaire.

Signalons aussi que l'a. déhydroascorbique est à même d'oxyder la dihydrocozymase en cozymase (ADLER et GUNTHER).

L'intervention de l'acide ascorbique dans diverses actions diastasiques paraît bien établie. Il fonctionne souvent comme un catalyseur.

Ces recherches, cependant, comportent bien des incertitudes, car, comme le fait remarquer KING [115], il est difficile de travailler sur des enzymes pures et des traces de substances (métaux) peuvent intervenir. L'acide ascorbique peut, en effet, facilement modifier des systèmes comme $Cu \rightleftharpoons Cu^+$, $Fe \rightleftharpoons Fe^{++}$, $SS \rightleftharpoons 2 SH$, etc., qui à leur tour modifient considérablement les réactions.

Dans certains cas, l'a. ascorbique remplirait un rôle de complément indispensable; formant avec l'apo-enzyme l'holo-enzyme active; selon la nomenclature de VON EULER, il constituerait une co-enzyme.

¹⁾ J. biol. chem. 122, 395, 1938.

Son intervention dans l'activité des enzymes protéolytiques paraît bien établie et peut-être ce fait est à rapprocher de sa présence, à un certain taux, en particulier dans la cellule intestinale.

KARRER et ZEHENDER ont vu qu'il augmente l'activité de la cathepsine sur l'albumine.

L'a. ascorbique active en outre d'une façon marquée l'action de la papaïne et de la broméline (MASCHMANN). Selon PURR, le complexe vitamine C + Fe active la papaïne, peut-être d'ailleurs indirectement en régénérant les SH oxydés.

On a également étudié son action sur les amylases. D'après PURR [166], l'a. ascorbique active la β amylase animale.

PANTSCHENKO-JUREWICZ et KRAUT [157] ont obtenus des préparations d'estérases hépatiques douées du pouvoir réducteur de l'a. ascorbique. L'a. ascorbique formerait en se joignant à l'apo-estérase une holo-enzyme: lui-même serait une co-estérase. Comme les quantités d'a. ascorbique nécessaire pour la réactivation de l'apo-estérase sont de beaucoup supérieures à celles que l'on trouve dans les préparations d'estérases actives, il y a lieu de penser que l'a. ascorbique ne s'unit pas directement avec l'apo-estérase, mais seulement après transformation.

Dans la désamination des acides aminés, l'a. ascorbique peut jouer un rôle manifeste. HOLTZ [96] a vu que l'a. ascorbique est capable de dégager une molécule de NH_3 de la histidine. Il semble que ce n'est là qu'un cas particulier d'une réaction générale de désamination des acides aminés. Ces réactions nécessiteraient le concours du fer; il s'agirait donc de l'effet d'un complexe a. ascorbique Fe.

Toutes ces données permettent bien d'envisager son intervention à tout instant de la vie de la cellule.

Intervention dans certains processus physiologiques spéciaux

Le rôle de l'acide ascorbique dans le fonctionnement des tissus mésenchymateux et ses dérivés se trouve révélé par l'étude de la carence proprement dite. C'est ce dont témoignent bien l'involution des odontoblastes, l'ossification pulpaire au niveau des dents; les résorptions considérables au niveau des os mais sans modification chimique de la substance osseuse; l'insuffisance de l'hématopoïèse (anémie); les altérations des endothéliums vasculaires qui dépendent peut-être aussi de l'absence

de la vitamine P (SZENT-GYÖRGYI, BENSATH, ARMENTANO, RUSZ-
NYAK). Cette nouvelle substance (glucoside flavonique, peut être
hespéridine) agirait en limitant la perméabilité capillaire et en
leur assurant une résistance normale.

Quand on examine d'une façon générale les taux des divers
tissus et organes, il est impossible de ne pas remarquer que
certains tissus sont pauvres, que d'autres sont riches, sans
rattacher ces différences de taux à leurs propriétés physiologiques
distinctes.

Rappelons à ce sujet que ces variations sont beaucoup moins
marquées pour d'autres éléments tissulaires comme le glutathion
(voir page 38) ou le flavine-ferment (voir page 39).

On a vu que d'une façon générale le tissu musculaire
était pauvre; mais néanmoins on a pu noter que sa teneur variait
selon les types fonctionnels et structuraux. En particulier, il y
a une relation avec leur teneur en sarcoplasma, ce qui correspond
avec leur mode d'activité. Les muscles sarcoplasmiques à activité
plus continue se trouvent toujours les plus riches. Les facultés
d'oxydation de l'acide ascorbique sont également très différentes
pour les divers types de muscles (les muscles toniques, le cœur
ont des oxydases particulièrement actives). Il serait de même
des pouvoirs de réduction, assez limités d'ailleurs, de l'acide
déhydroascorbique (WACHHOLDER, PODESTA, BRUSS)¹⁾.

On a également observé des variations significatives dans
les diverses parties du système nerveux. Certains éléments
ganglionnaires sympathiques ont relativement une teneur élevée
qui les rapproche du tissu médullo-surrénalien, ce qui vaut la
peine d'être retenu. Ce fait doit probablement être rapproché
des constatations d'HUSZAK [99] qui a déjà signalé que ces gang-
lions se comportent (absence d'oxydation de la paraphénylène-
diamine + α naphтол) d'une façon assez spéciale et analogue
également à la médullo-surrénale.

On a pu voir que les différentes parties du tube digestif
n'étaient pas comparables et on a pu remarquer la richesse de
l'intestin grêle indépendamment de l'apport vitaminé alimentaire.
Cette capacité de fixation de l'acide ascorbique n'est peut-être

¹⁾ L'intervention de l'a. ascorbique dans la physiologie musculaire
est bien révélée par les modifications du muscle carencé: diminution de
l'a. créatine phosphorique et augmentation de l'a. lactique.

pas sans connexion avec le pouvoir activateur de ce corps sur plusieurs diastases.

Mais les données les plus remarquables concernent les relations qui paraissent exister entre l'acide ascorbique et les fonctions endocriniennes. Les plus hautes concentrations et de beaucoup se trouvent en effet parmi les glandes à sécrétion interne. Les taux considérables de l'hypophyse, de la surrénale, du corps jaune, du tissu interstitiel, du testicule, doivent attirer l'attention. Ainsi le lobe intermédiaire de l'hypophyse atteint 200 mg. pour 100 gr., le lobe antérieur 170 mg.

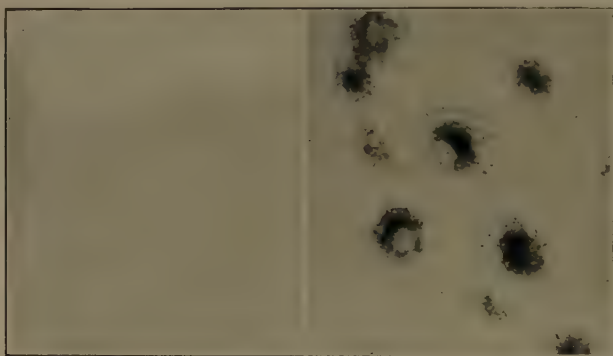


Fig. 39. Comparaison entre cellules lutéiniques (à droite) et folliculeuses (à gauche) nitrate d'argent acide (photo H. RAGOT).

Le cortex surrénal atteint 160 mg., la médullo-surrénale 120 mg. Le corps jaune de l'ovaire 160 mg. Ces très hautes valeurs que l'on observe dans les tissus à fonction endocrine suggèrent l'idée que l'acide ascorbique doit jouer un rôle dans la production des hormones. C'est ce qui avait déjà été envisagé par SZENT-GYÖRGYI [183 bis] à propos de la surrénale lors de ses premières recherches.

Si l'on examine les faits de plus près, cette impression se confirme. L'observation histochimique (GIROUD et LEBLOND [62]) et micro-chimique (GLICK et BISKIND [81]) de la surrénale paraît révéler des phénomènes assez suggestifs: la zone glomérulée que les histophysiologistes ont toujours été tentés de considérer comme une zone de repos s'avère pauvre tandis que les zones fasciculées et réticulées apparaissent très riches. Il faut signaler

ici les variations fonctionnelles de l'acide ascorbique dans la surrénale au cours du travail. WACHHOLDER et UHLENBROCK [188 bis] les ont signalé. RATSIMAMANGA [168] l'a bien montré chez le cobaye et le rat: le taux diminue au cours du travail et se récupère au cours du repos. Ainsi chez le cobaye normal, le taux de l'a. ascorbique réduit tombe de 115, 6 à 98 à la suite du travail. Cette chute globale porte sur la corticale: elle paraît ainsi liée avec l'activité endocrine de cette partie de la surrénale.

Les phénomènes sont plus démonstratifs encore avec l'ovaire. Là les données histochimiques, chimiques, physiologiques trouvent des points de concordance remarquable et l'on observe une superposition entre la teneur en acide ascorbique d'une cellule et son activité hormonale.

Dans l'ovaire, la cellule folliculeuse est avec la cellule thécale l'élément fondamental au point de vue production hormonale. Des travaux récents tendent à faire considérer la seconde comme la source de la folliculine, mais certains faits et surtout l'absence de cet élément dans l'ovaire de divers animaux, obligent à considérer selon les cas la cellule folliculeuse soit comme le seul élément sécrétant la folliculine, soit comme un des éléments ovariens sécrétant cette hormone. D'autre part, il est bien prouvé que la cellule lutéinique qui constitue le corps jaune, n'est qu'une forme d'évolution de la cellule folliculeuse et que c'est elle qui sécrète la progestine.

Or, histochimiquement, la cellule folliculeuse ne donne pas la réaction de l'acide ascorbique; au contraire, la cellule lutéinique donne une forte réaction qui révèle sa richesse (GIROUD et LEBLOND [59]).

Chimiquement, la cellule folliculeuse n'a pu être dosée directement. Cependant l'on sait que des tumeurs ovariennes sécrétant la folliculine ne sont pas riches en vitamine (BISKIND et GLICK [16]) et qu'il en est de même pour le placenta. Et d'autre part, il y a un fait qui confirme bien la pauvreté primitive de cette cellule: la jeune cellule lutéinique que l'on peut doser chimiquement n'est pas très riche au début et elle ne s'enrichit qu'au cours de son développement pour regagner plus tard d'ailleurs (GLICK et BISKIND [15]), GIROUD, RATSIMAMANGA, LEBLOND et RABINOWICZ [75], POLICARD et FERRAND [164—165], (voir page 58). En plein état d'épanouissement morphologique et physiologique

elle présente un taux très élevé. Ainsi le taux de l'acide ascorbique varie comme les propriétés fonctionnelles de cette cellule ovarienne: une concentration élevée de l'acide ascorbique cellulaire correspond à la sécrétion de la progestine.

On peut donc se demander s'il n'y a pas là une relation physiologique nécessaire. De fait au cours de la carence ou de la précarence on voit des lésions de l'ovaire et particulièrement du corps jaune KRAMER, HARMANN et BRILL [117], GIEDOSZ et RYCHLICK [55], JAKOLEW, PODSOROW et DERTSCHINKIJ [103].

Surtout ce que l'on observe dans ces cas ce sont les troubles fonctionnels (MOURIQUAND et SCHOEN [141]), GOETTSCH [86], MIURA et OKABE [135], KRAMER, HARMANN et BRILL [117], et en particulier l'avortement et l'impossibilité de la gestation: faits qui s'expliquent parfaitement par l'insuffisance fonctionnelle du corps jaune. Cette interprétation se trouve confirmée par le fait que ces troubles de la gestation ne se développent chez le cobaye qu'au début de celle-ci: au cours de la deuxième partie de la gestation la carence ne détermine plus l'avortement. Or justement l'expérience a montré que chez cet animal le corps jaune n'est plus nécessaire dans cette deuxième période. L'action de la carence porterait donc sur le fonctionnement endocrine du corps jaune. Ces faits permettent d'admettre que les hautes concentrations en vitamine dans le tissu lutéinique sont nécessaires à la production de la progestine. Ainsi dans ce cas particulier tout au moins le rôle de l'acide ascorbique dans la sécrétion hormonale paraît bien établi.

III

L'ACIDE ASCORBIQUE DANS LA CELLULE VEGETALE

L'acide ascorbique chez les végétaux

Les propriétés antiscorbutiques des végétaux ont été entrevues et utilisées depuis longtemps. Ces connaissances ont précédé de beaucoup toutes notions sur l'acide ascorbique et même sur les vitamines.

Selon PLINE, les soldats de Britannicus se trouvant au-delà du Rhin furent atteints d'une sorte de scorbut "stomacace" dont ils guérissent grâce à une plante indiquée par les habitants du pays, à laquelle ils donnèrent le nom de Britannica en l'honneur de leur chef. C'était vraisemblablement le *Rumex aquaticus*.

En 1671, NICOLAS VENETTE savait qu'il existait une relation entre l'apparition du scorbut et l'absence de végétaux frais dans l'alimentation et il écrivait: "En Norvège et dans les pays du Septentrion, on envoie des scorbutiques dans les bois pour y manger des mûres, des fraises et des framboises. Ils n'en retournent point que leur maladie ne soit beaucoup diminuée... La cerise aigre, le citron, l'orange, la grenade et les groseilles sont aussi des fruits antiscorbutiques... On pourra mêler ce remède avec un peu de conserve de rapure d'orange ou de citron, parce que ces fruits ont cela de propre qu'ils sont directement opposés aux causes du scorbut."

KRAMER 1720, BACHSTRÖM 1734, exposaient des conceptions analogues. Dans la pharmacopée de JADELOT 1784, les racines de *Cochlearia armoracia*, celles du *Petroselinum sativum*, les feuilles de *Cochlearia officinalis*, de *Veronica beccabunga*, de *Rumex acetosa*, de *Fumaria officinalis* et les semences de *Sinapis arvensis*, sont déjà données comme antiscorbutiques.

Les recherches modernes ont confirmé ces premières intuitions. La découverte par SZENT-GYÖRGYI (138) de l'acide ascorbique a définitivement consacré la présence, la nature et l'importance de cet élément dans le règne végétal.

Depuis, de nombreuses recherches ont été effectuées dans le monde entier; sa présence, sa répartition, son rôle sont de plus en plus connus. Les faits sont très généraux, et il ne semble guère y avoir d'exceptions que parmi les végétaux inférieurs¹⁾.

¹⁾ L'acide ascorbique manque en effet, malgré certains indices [12] [17 bis] chez les champignons d'après DI MATTEI [101], HARA [60], STEIDLE [134], SCHEUNERT [131], MENTZER et VIALARD-GOUDOU [106], les levures, HESS [69], les bactéries WOLLMANN [161], BIELING [9].

L'ACIDE ASCORBIQUE DANS LA CELLULE VEGETALE

La présence de l'acide ascorbique dans la cellule végétale ne fait aucun doute. D'une manière globale, on peut dire qu'il existe toujours à un taux appréciable et souvent même à une concentration considérable. Les dosages ont révélé des chiffres souvent très élevés et dans ces cas bien supérieurs à ceux que l'on trouve dans les cellules animales les plus riches. D'une façon générale, on peut dire que le taux varie entre 100 mg et 3 mg pour 100 gr de tissu frais. Ce qui correspond à un rapport oscillant couramment entre $\frac{1}{1000}$ et $\frac{1}{30000}$.

La répartition de l'acide ascorbique dans l'intérieur même de la cellule doit attirer toute notre attention. Est-il distribué uniformément, est-il réparti suivant les différentes parties de la cellule à des concentrations différentes ou bien enfin est-il localisé à certains éléments cytologiques seulement. Ce que l'on sait par ailleurs permet d'envisager surtout les deux dernières hypothèses; malheureusement, les renseignements que nous possédons ne sont pas aussi abondants que l'on le désirerait.

La cellule végétale présente une complexité qu'il ne faut pas négliger. Elle comporte comme toute cellule une série de constituants fondamentaux: noyau, cytoplasme, chondriosomes. Elle se complique du fait de la différenciation de certains éléments de nature chondriosomienne, les plastes et ensuite par le développement du système vacuolaire.

Système vacuolaire

Le système vacuolaire est un des éléments bien caractéristique de la cellule végétale. Il n'existe qu'exceptionnellement dans certaines cellules animales (tissus chordoïdes) ou sous une

forme plus discrète et encore discutée au niveau de l'appareil de GOLGI (Vacuome de PARAT).

Dans la cellule végétale, le système vacuolaire prend souvent un développement considérable et, par suite, il représente généralement la plus grande partie de la masse du tissu frais. Les vacuoles qui le constituent renferment outre l'eau, des substances nombreuses et variées, matières minérales, glucides, tannins, acides organiques, amines, amides, alcaloïdes, protéïdes.

Elles ont généralement une réaction acide¹⁾. Chez *Valonia*, le pH est situé entre 5 à 6,7 selon CROZIER, HAAS et IRWIN. Estimé par une méthode comparative avec des solutions anthocyaniques naturelles, le pH (HAAS, CROZIER et SCHMIDT) varierait suivant les cas entre 3,0 à 8,0).

Leur potentiel d'oxydo-réduction qui est un document important a fait l'objet de plusieurs travaux.

MATILDA BROOKS [15] a établi sur l'algue *Valonia* que le suc cellulaire possède un rH compris entre 16 et 18.

RAPKINE et WURMSER [122] ont étudié le rH de *Spirogyra*. En micro-injectant d'abord des indicateurs de pH (le rouge de méthyle qui vire au jaune franc, le pourpre de bromocrésol qui vire au vert jaune, le rouge de phénol au jaune), ils ont pu conclure à un pH voisin de 6. Ensuite, en micro-injectant les indicateurs de réduction, ils ont obtenu les résultats suivants: le bleu de méthylène oxydé reste complètement coloré; le sel de sodium de l'acide indophénol 1 naphtol 2 sulfonique et l'indophénol 2.6 dibromophénol sont complètement réduits. Ils ont conclu que le potentiel est situé entre +0,17 et +0,07, que par suite le rH se trouve entre 17,6 et 14,4.

Signalons par ailleurs que les jus de presse qui correspondent en partie au suc cellulaire ont fait l'objet à cet égard des recherches de A. MEYER et PLANTEFOL [103]. Ces auteurs ont étudié colorimétriquement (2.6 dibromophénolindophénol, violet de LAUTH, bleu de méthylène, vert JANUS, rouge neutre) le pouvoir réducteur des jus de presse après filtration sur filtre de verre. En

¹⁾ Selon BRACWELL et ZILVA [13], le pH du jus de différentes races de pamplemousses sont assez variables, mais leur pouvoir antiscorbutique est toujours à peu près le même. Il n'y aurait pas de relation entre le pH et la teneur en vitamine C. Ajoutons que, inversement dans les tomates tétraploïdes, les jus sont simultanément plus acides et plus riches en vitamine (SANSOME et ZILVA [126]).

présence d'O₂, ils trouvent que le potentiel limite correspond à $19 < rH > 20$ et qu'il ne serait pas très éloigné pour les différents tissus. Ces jus ont les mêmes propriétés que les tissus. Bouillis, ils conservent ces mêmes propriétés. Dans le vide, certains tissus qui sont précisément des tissus à vie active ne décolorent pas d'indicateurs inférieurs dans l'échelle des rH à ceux qu'ils décoloraient dans l'air: la plupart des tissus décolorent la thionine, le bleu de méthylène $rH = 16$ à 24 , sans jamais décolorer le vert JANUS $rH = 5$.

Récemment KRASSINSKY [83 bis] a mesuré à l'abri de l'air le rH du jus de presse de quelques tissus végétaux: tubercules et bourgeons étiolés de pomme de terre, bulbe d'oignon, racine de betterave, de radis. Il a trouvé que le rH oscille autour de 17. Le minimum étant 15,5 et le maximum de 20,9. Il augmenterait avec la germination (pomme de terre, oignon, betterave).

La présence de l'acide ascorbique dans le suc cellulaire découle de toute une série de faits connus depuis longtemps. Les jus obtenus par pression aux dépens des tissus végétaux frais ont fourni des données très instructives. Il ne semble pas cependant que tous les jus puissent à cet égard être regardés comme comparables.

Les uns peuvent s'extraire sans difficultés et correspondent au suc cellulaire. Les autres correspondent à un broyage brutal qui peut entraîner d'autres éléments. Au premier type, appartiennent ceux qui sont obtenus à partir de la chair des citrons ou des oranges. Dans ces fruits, les cellules de très grandes dimensions de l'endocarpe sont pourvues d'une immense vacuole, elles éclatent facilement et libèrent ainsi le contenu vacuolaire. Lorsque les opérations sont effectuées avec une certaine douceur, on peut envisager que les jus correspondent à la simple expression du liquide vacuolaire. On peut admettre dans ce cas que le protoplasma n'est pas trop lésé et qu'il puisse ne pas intervenir. Au second type de jus au contraire dont extraction nécessitent de fortes pressions, il y a lieu d'envisager que la cellule elle-même est dilacérée et le protoplasme broyé est plus ou moins mélangé avec le liquide vacuolaire. Il est vraisemblable que dans ce cas, les débris cellulaires ou cytoplasmiques peuvent influencer sur la constitution du jus de presse: par suite, ce dernier ne représente plus qu'imparfaitement le suc vacuolaire. Ils ont donc une valeur théorique bien inférieure aux premiers.

Toutefois, si l'on se contente d'une certaine approximation, on peut admettre que les jus obtenus par pression et filtrés secondairement, correspondent en partie au liquide contenu dans le système vacuolaire de la cellule végétale, et par suite, en tenir compte comme tel.

La présence de l'acide ascorbique dans ces jus est connue depuis longtemps. Autrefois même, l'on savait que le jus de divers fruits était antiscorbutique: c'est ce que prouvent les anciennes pratiques d'utilisation du jus de citron en particulier. Dans le jus de citron, CHICK et SMITH (1918) [18]; DAVEY (1921) [25], HARDEN (1918) [62], HOLST et FRÖHLICH (1912) [73—72] ont mesuré le pouvoir antiscorbutique. Le jus du *Citrus medica* var. *lemonum* est plus riche (1,5 cm³, et 2 cm³, 5 suffisent à protéger le cobaye) que celui des *Citrus medica* var. *acida* (il faut 5 à 10 cm³ pour protéger le cobaye). Il en est à peu près de même pour le jus d'orange. GIVENS et MACCLUGAGE (1918) [49], HESS et UNGER (1918) [71] ont démontré les capacités préventives du jus de tomate. L. RANDOIN et PORTIER (1922) [117] ont prouvé celui du jus de raisin. Récemment L. RANDOIN (1937) [121 bis] a estimé le jus de raisin frais à 15—25 mg par kilog c'est à dire le cinquième du jus d'orange, tandis que le raisin frais total contient 38—95 mg par kilog. CHICK et RHODES (1918) [19] ont vu que le jus de betterave à la dose de 20 cm³ protège partiellement le cobaye et que le jus de carotte crue le protège complètement à la même dose. Ces deux jus sont donc antiscorbutiques, mais moins que celui de l'orange. Le jus de guaves serait aussi actif que le jus d'orange, le jus d'ananas le serait moitié moins. (MILLER et ROBBINS) [108].

Voici quelques valeurs de jus comparés (par rapport au citron = 100) d'après CHICK et DALYELL [20].

Jus d'orange frais	110
Jus de citron frais	100
Jus de bette	60
Jus de carotte	7,5
Jus de bette rouge	7,5

Au départ de ces jus (citron entre autres), on a même cherché à préparer l'acide ascorbique. Souvent, en tout cas, il y a été dosé chimiquement.

Voici quelques chiffres de jus de presse dosés avec le dichlorophénol-indophénol et empruntés à TILLMANS, HIRSCH et JACKISCH (1932) [143].

Valeurs exprimées en centimètres cubes de dichlorophénol, par 10 cc. de jus de presse.

Mûre	5—6	Airelle rouge	7
Fraise	43	Raisin noir	0
Airelles	1—2	Raisin blanc	0
Framboise	19	Raisin rouge	0
Baie de sureau	23	Raisin d'Espagne	0—0,1
Groseille (rouge)	25	Reine Claude	0,1
Groseille (noire)	83	Concombre	5,6

Comme on le voit d'après ce tableau, les jus de fruits contiennent des quantités notables à l'exception des jus de raisin.

TAUBER et KLEINER (1935) [142] en utilisant leur méthode à l'oxydase qui permettrait de distinguer l'acide ascorbique des autres substances réductrices, donnent les chiffres suivants:

Vitamine C en milligr. par 100 gr. de substance

	Réduction totale	Réduction non due à l'ac. ascorb.	Ac. ascorb. réel.
Jus d'orange	52	5	47
Jus de citron	61	0	61
Jus de mandarine	50	traces	50
Jus de pamplemousse	62	0	62

Comme on le voit, dans l'ensemble ces jus ne renferment guère d'autres réducteurs.

Les résultats de MARTINI et BONSIGNORE (1934) [99] sont analogues. Ces auteurs, en utilisant leur méthode au bleu de méthylène, montrent que tout le pouvoir réducteur est dû à de l'acide ascorbique dans le jus de citron et presque tout dans le jus d'orange.

Tous ces faits chimiques et biologiques n'ont pas la même valeur. On peut conclure néanmoins et tout particulièrement de ceux qui concernent les fruits charnus comme les oranges, les citrons, les pamplemousses que le suc cellulaire renferme de l'acide ascorbique et souvent à des taux assez élevés.

Cette question mériterait des recherches plus précises, plus étendues et faisant appel aux micro-méthodes. Parmi les données acquises il faut rappeler ici les données concernant le rH de ces sucs dans les objets favorables de M. BROOKS, de RAPKINE et WURMSER que nous avons exposées antérieurement (voir page 105).

Quelques observations histochimiques ont été effectuées. La réduction du nitrate d'argent ou d'autres substances a été observée maintes fois depuis les observations de LOEW et BOKORNY [95] dans le suc cellulaire (WISSELINGH, GICKELHORN).

Récemment, DISCHENDORFER, dans le but de rechercher l'a. ascorbique, effectue des essais histochimiques sur des coupes fraîches de feuilles de glaïeul particulièrement riches en vitamine (3 à 5 gr. par kg.). Avec un mélange fraîchement préparé à parties égales de chlorure de fer et de ferrocyanure de potassium, il y a apparition instantanée de bleu de Prusse qui, malheureusement, apparaissait non seulement dans les cellules, mais aussi dans leurs environs immédiats. Avec le permanganate de potassium à 1%, il y a une formation instantanée de précipités bruns rouges facilement solubles dans une solution d'acide oxalique, différenciables de ceux dus aux tannins du fait que ces derniers se trouvent dans des cellules spéciales et qu'ils ne sont pas réclaircis par l'acide oxalique. Il a surtout utilisé la réaction de KUHN et WEYGAND. Ces derniers auteurs ont trouvé en effet que l'acide ascorbique transforme l'o-nitroso-dinitrobenzol et l'o-dinitrobenzol en un composé rouge soluble dans l'eau qui n'est autre que le sel de sodium de l'o-nitrophénylhydroxylamine. En recouvrant des coupes de feuilles avec une légère couche de o-nitroso-nitrobenzol dissous dans NaOH diluée, DISCHENDORFER a vu que les cellules contenant de la vitamine et leurs contours se colorent en rose. Mais comme le dit l'auteur lui-même, ces réactifs ne permettent pas une détection localisée véritable de l'acide ascorbique.

Il y aurait grand intérêt, comme le fait remarquer également DISCHENDORFER, à poursuivre ces essais histochimiques et à s'assurer de la distribution précise de l'acide ascorbique. Peut-être pourrait-on, non seulement qualitativement, mais quantitativement, entreprendre de telles recherches en s'adressant à certaines Algues telles que les *Valonia*, ou aux Characées. En utilisant les techniques de micromanipulation, ces recherches peuvent être entreprises et méritent de l'être.

Il reste en tout cas, du moins des faits biologiques et chimiques, que l'acide ascorbique est présent dans le suc cellulaire et qu'il peut y exister à une notable concentration.

Cytoplasme et Chloroplastes

La présence de l'acide ascorbique dans le cytoplasme lui-même est parfaitement vraisemblable, les faits observés dans la cellule animale permettent de l'envisager. On peut la déduire de divers faits, qui ne sont d'ailleurs pas à l'abri d'objections.

On peut invoquer d'abord certaines données chimiques. Lorsque l'on soumet un tissu végétal à une certaine pression nous avons vu qu'il en sort un jus, un liquide qui correspond en grande partie au contenu des vacuoles. Ce jus possède de l'acide ascorbique à une certaine concentration. Si l'on dose directement ces tissus par les méthodes de broyages et d'extractions ordinaires, on trouve des chiffres différents, souvent même plus forts. Ceci révélerait que de l'acide ascorbique existe dans les cellules en dehors du suc cellulaire et à une plus haute concentration que dans ce dernier.

Quelques résultats de TILLMANS, HIRSCH et JACKISCH [143] exprimés en cc. de dichlorophénol-indophénol réduit par 10 gr. de substances ou par 10 ccm. de jus de pression méritent d'être cités à cet égard.

	extrait acide à froid	jus de pression
mûre.	17	5—6
fraise	30	43
airelle	66	1—2
baie de sureau	51	23
groseille rouge	33	25
groseille noire	119	83
airelle rouge	9	7
raisin blanc.	4	0

On voit que par l'extraction directe, on obtient des chiffres supérieurs à ceux obtenus par pression. Cette différence est en faveur de l'existence d'acide ascorbique en dehors du suc cellulaire. Des faits plus simples confirment cette interprétation. Avec certains objets favorables en effet on peut après expression du

suc vacuolaire doser secondairement le résidu cellulaire; protoplasma, membranes, restes du contenu vacuolaire. On observe dans ces conditions la présence d'acide ascorbique en quantités importantes.

Voici les résultats personnels de l'expression des cellules de l'endocarpe du citron, de la mandarine et de l'orange (dosage au dichlorophénol-indophénol, l'acide ascorbique est exprimé en milligrammes pour 100 gr.).

	citron	man- darine	orange
jus d'expression par 100 gr.	74,4	37,8	28,5
endocarpe après expression par 100 gr. .	87	39	40

Comme on le voit, ces faits ne sont pas absolument généraux. Ils révèlent cependant l'existence d'acide ascorbique en dehors du suc vacuolaire et même à une haute concentration.

Histochimiquement il existe aussi des faits dont on doit tenir compte, mais dont l'interprétation n'est pas très facile. Au niveau du noyau, comme dans la cellule animale, rien n'indique la présence de l'acide ascorbique. Ce qui ne veut pas dire que le noyau ne joue pas un rôle vis-à-vis de cet élément. Au contraire, les données de la génétique révèlent l'existence de variations factorielles et surtout comme on le verra plus loin la constitution globale du noyau (génomés multiples) agit manifestement (voir page 155). Au niveau du cytoplasma lui-même, une série de faits ont révélé maintes fois un pouvoir réducteur depuis les premières observations de LOEW et BOKORNY [95], WISSLINGH, GEITLER [41], LINSBAUER [94], WEBER [150], C. CARUSO [15 bis] entre autres ont signalé la réduction du nitrate d'argent par le protoplasma. Le fait le plus général et le plus important semble-t-il c'est le pouvoir réducteur des chloroplastes sur lequel nous allons maintenant insister.

Signalons aussi les observations de JOYET-LAVERGNE [79 bis et ter] qui révèlent dans le cytoplasme et dans certains de ses éléments un potentiel d'oxydo-réduction assez bas (voir page 91) et où l'acide ascorbique joue peut-être un rôle à moins que ce ne soit la protéoflavine par exemple.

Chloroplastes. Réaction de MOLISCH.

Depuis l'époque où MOLISCH a observé pour la première fois le pouvoir réducteur de chloroplastes, cette propriété a fait l'objet de multiples observations assez indépendantes du reste F. WEBER [150] en a fait récemment un excellent exposé auquel nous ferons de larges emprunts.

MOLISCH (1915—1921) [110—111—112] a montré pour la première fois que les chloroplastes ont le pouvoir de réduire le

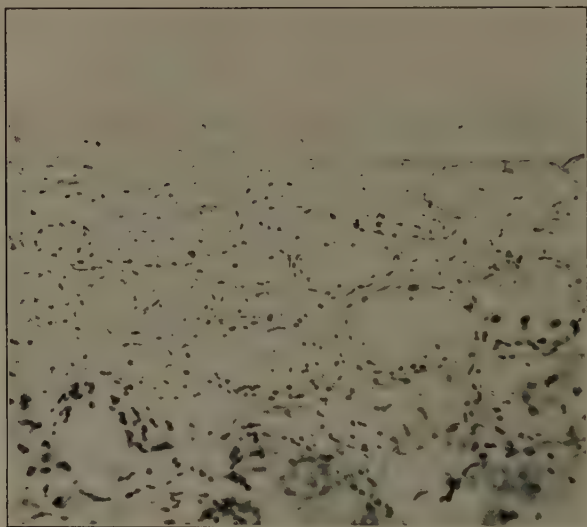


Fig. 40. Plastés au nitrate d'argent acide de fruit du *Capsicum annuum*.
D'après GIROUD, RATSIMAMANGA et LEBLOND.

nitrate d'argent et il a constaté que cette réaction ne se produit que dans les cellules vivantes. Selon lui, cette réaction ne serait due ni à la chlorophylle, ni au carotène, ni à la xanthophylle: elle serait due à la présence dans les chloroplastes d'aldéhyde formique.

CZAPEK (1920) [24] qui a étudié également cette réaction pense qu'elle pourrait se produire aussi bien dans les cellules mortes que dans les cellules vivantes, à la condition que l'exosmose de la substance réductrice soit inhibée: elle serait due à des dép-
sides.

GEITLER (1922) [41] en utilisant le nitrate d'argent bouillant, observe soit la coloration des chloroplastes, soit en plus l'apparition de grains argentiques dans le protoplasme au contact des chloroplastes.

RUHLAND et WETZEL (1924) [124] se sont servi de ce réactif pour colorer de très petits chloroplastes.

GAVAUDAN (1930) [40] ayant remarqué le pouvoir réducteur des plastes des Muscinées a cru que ce pouvoir réducteur appartenait à tous les plastes quels qu'ils soient.

GUILLIERMOND (1934) [55] a montré que le pouvoir réducteur des plastes est strictement limité aux plastes chlorophylliens et n'existe ni pour les plastes incolores ni pour les chromoplastes. MOLISCH avait d'ailleurs déjà observé l'absence de réaction des plastes des plantes étiolées. Ce pouvoir se manifeste dès que le futur chloroplaste encore à l'état de chondrioconte commence à présenter une coloration verte du fait de l'apparition de la chlorophylle. Par ailleurs, il signale que la chlorophylle diffuse des Cyanophycées ne donne pas cette réaction.

GAUTHERET (1934—1935) [38, 39] a effectué toute une série de recherches concernant le mécanisme de la réaction, et en particulier sur l'action de la lumière. Il réfute l'hypothèse de MOLISCH, mais il ne précise pas à quelle substance réductrice on doit l'attribuer.



Fig. 41. Plastes de *Gladiolus*: réaction granulaire au nitrate d'argent. D'après O. DISCHENDORFER.

GIROUD, R. RATSIMAMANGA, LEBLOND (1935) [45], en se basant sur une série de considérations: spécificité marquée de leur réactif au nitrate d'argent acide et surtout corrélation qui existe entre le taux de la vitamine C et la présence de la chlorophylle, ont émis l'hypothèse que cette réduction pourrait être due à l'acide ascorbique.

WIELER (1936) [155] pense qu'il faut attribuer cette réaction aux huiles essentielles présentes dans les plastes chlorophylliens.

Récemment, F. WEBER (1937) [149] a étudié cette réaction sur de multiples objets. Chez les Sélaginelles, il observe des

réactions superficielles ou limitées à un pôle du chloroplaste; il envisage par suite sa localisation possible dans certains cas au péristromium, tel que l'a envisagé SENN [133] et que l'ont admis récemment SCARTH [128] et WIELER. Chez *Polygonatum multiflorum* (baies) où la structure granulaire est manifeste, il observe la réaction comme un réseau noir limitant de petites zones incolores qu'il est difficile d'identifier avec les granules chlorophylliens.

Ces derniers temps également (1937), DISCHENDORFER [26—27] réfute l'interprétation de WIELER et soutient avec des arguments nouveaux l'hypothèse de l'acide ascorbique. Il observe

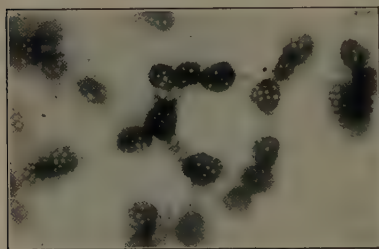


Fig. 42. Plastes du fruit *Polygonatum multiflorum*: réaction réticulaire.
D'après F. WEBER.

que les chloroplastes (glaïeul) ont un aspect moucheté après le nitrate d'argent acide. Ils sont comme recouverts de petites tâches noires qui, au bord du chloroplaste, semblent allongées, mais de face paraissent arrondies. Il pense que cette disposition correspond à la structure même du chloroplaste telle que l'a entrevue autrefois SCHIMPER et que l'a récemment montré E. HEITZ

[66—67]¹⁾. La réaction intéresserait les petits disques lipoïdes, porteurs de chlorophylle „grana“ qui sont implantés superficiellement dans le stroma aqueux incolore des chloroplastes. Ces disques seraient le support de l'acide ascorbique et par suite du pouvoir réducteur du plaste.

¹⁾ Ces disques sont le support de la fluorescence chlorophyllienne (HEITZ, METZNER) et de la biréfringence (WEBER). Selon FREY-WYSSLING [36] ils présenteraient une architecture lamellaire et seraient constitués par les éléments suivants: protéïdes, phosphatides, chlorophylle, carotène et xanthophylle. Ils seraient constitués par une alternance de couches protéïques et de doubles couches de phosphatides. Les molécules de chlorophylle présenteraient leur groupement phytol enclavé entre les chaînes palmitiques des phosphatides tandis que leur groupement porphine serait en regard avec les couches protéïques. Les molécules de carotène et de xanthophylle seraient aussi adsorbés par la couche de phosphatides.

Cette réaction des chloroplastes est très générale (sauf peut-être certaines algues et en particulier les Diatomées) mais elle peut se présenter sous des formes assez variées. Chez certains plastes tels que ceux de *Spirogyra*, elle est limitée aux bordes dentelures (MOLISCH). KIYOHARA [82] a vu après nitrate bouillant le chloroplaste coloré dans sa partie corticale, tandis que son centre reste incolore, et il en conclut à l'hétérogénéité du chloroplaste. On peut d'ailleurs se demander s'il ne s'agit pas dans ce cas de plastes en début de dégénérescence. GAUTHERET suivant la dilution du réactif note que la coloration est homogène ou granuleuse. Chez les Sélaginelles, F. WEBER [149] a vu des colorations limitées à la surface ou à un pôle du plaste. WIELER [154—155], DISCHENDORFER [26—27] voient la réaction sous forme de petits granules dans le stroma incolore tandis qu'au contraire elle se présente sous l'aspect d'un réseau chez *Polygonatum* (WEBER).

D'après les données toutes récentes (1938) de PEKAREK [115 bis] la réaction qui se présente sous l'aspect d'un réseau n'a lieu qu'à la surface du chloroplaste et seulement entre les granules chlorophylliens comme F. WEBER l'avait envisagé. Ainsi le principe réducteur (non pré-



Fig. 43. Schéma d'après FREY-WYSSLING de la constitution du chloroplaste avec les disques chlorophylliens à structure lamelleuse, constitués en réalité par plus d'une centaine de couches monomoléculaires de chlorophylle.

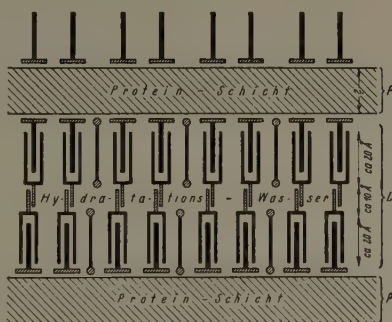


Fig. 44.

Schéma de FREY-WYSSLING (d'après celui de Hubert modifié). Montrant la constitution des couches qui forment les disques chlorophylliens. Les molécules chlorophylliennes en T, celles de lécithines en fourchette, et celles de xanthophylle en batonnets terminés par deux groupes hydrophiles.

cisé) serait localisé au niveau du stroma et par suite séparé des molécules chlorophylliennes.

Enfin dans certaines conditions les faits peuvent être tout différents. C'est ainsi que WEBER [150] a vu chez *Polygonatum* une réduction uniquement cytoplasmique: les chloroplastes

apparaissaient en blanc dans le cytoplasme noir. La réaction était complètement inversée.

C. CARUSO [15 bis] chez les Aloïnées et les Cactacées observe à l'obscurité une réduction avec du nitrate acide (brunissement) se manifestant plus ou moins seulement sur les chloroplastes. A la lumière (soleil) le cytoplasme devient tout noir tandis que les plastes se colorent peu ou pas. Ces divers comportements se maintiennent sur le tissu tué (2'' jet de vapeur). Par photo-oxydation (technique de Sidorin [133 bis]) le pouvoir réducteur disparaît.

Par ailleurs l'auteur sig-

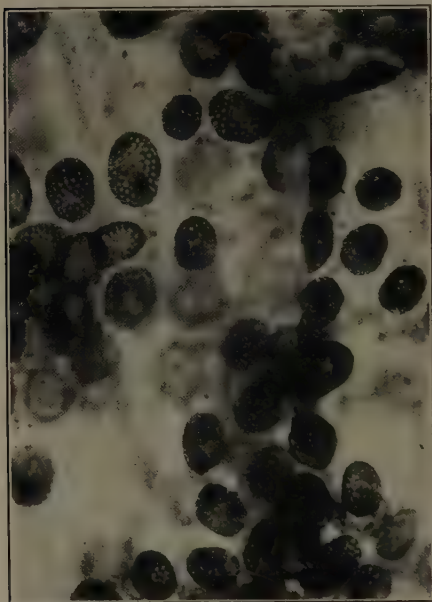


Fig. 45. Chloroplastes de cellules de feuilles de *Gladiolus*. Noircissement téticulé du chloroplaste avec le nitrate d'argent d'après PEKAREK.

nale que les caroténoïdes des chromochloroplastes ne réduisent pas le réactif. Il est bien évident qu'en présence d'une lumière intense l'oxydo-réduction du nitrate est facilitée, elle en devient de ce fait moins spécifique. Les déductions qu'on en peut tirer ne doivent pas être équivalentes. Quoiqu'il en soit, ces faits paraissent indiquer dans le cytoplasme comme dans le chloroplaste la présence de substances réductrices. Selon les circonstances la réaction s'amorcera en un point ou en un autre, la première amorcée supprimera la seconde. Ces phénomènes d'amorçage expliquent nombre de faits (voir page 35), et

entre autres ceux observés par Caruso à savoir que des cellules à forte réaction sont parsemées ou arbitrairement disposées parmi des cellules homologues qui ne réagissent presque pas.

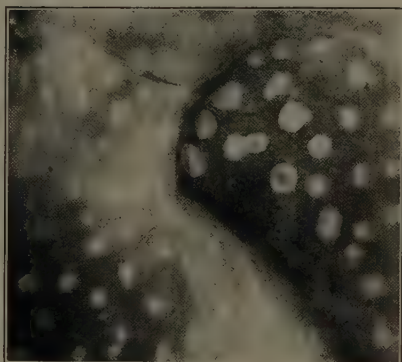


Fig. 46.

Inversion de la réaction au nitrate d'argent chez *Polygonatum multiflorum*: protoplasma coloré, plastes incolores.

D'après F. WEBER.

Causes de la réaction de MOLISCH.

Cette réaction ne s'obtient pas qu'avec le nitrate d'argent; les autres sels (sulfate, acétate, chlorate, fluorure) se comportant de même, comme l'a observé GAUTHERET [39]. Le chlorure d'or est également réduit.

Elle a lieu avec des solutions de concentrations très diverses (0,20 à 15%), mais elle se présente différemment. Avec des solutions diluées, l'argent se dépose dans les chloroplastes à l'état colloïdal (les chloroplastes sont alors colorés d'une façon homogène en brun), avec les solutions concentrées, il se forme généralement des précipités noirs d'aspect granuleux à la surface des plastes (GAUTHERET).

On l'obtient avec des solutions neutres comme avec des réactifs fortement acides et par suite plus spécifiques (pH 3—4) comme nous l'avons vu, ainsi que F. WEBER [149] et C. DISCHENDORFER [26—27].

Cette réaction généralement effectuée à la lumière peut aussi avoir lieu à l'obscurité. L'interprétation ne doit donc pas considérer l'excitant lumineux comme un facteur essentiel. Cependant, ce conditionnement, étudié en détail par GAUTHERET, doit attirer l'attention. Pour certains tissus, les jeunes en particulier, la lumière est nécessaire; il en est de même pour les chloroplastes des épidermes et en particulier ceux des stomates, et les radiations les plus actives sont les radiations rouges qu'absorbe justement

la chlorophylle. Si l'éclairage est insuffisant, d'autres réactions peuvent se développer: en particulier, la réduction des vacuoles à tannin. Inversement des éclairages trop puissants peuvent déterminer d'autres types de réaction (C. CARUSO).

Parmi les conditions opératoires, il y en a une qui semble primordiale, c'est qu'elle ne s'effectue que sur la cellule vivante, comme MOLISCH [110] l'a observé dès le début. Le nitrate d'argent lui-même peut empêcher la réaction: en traitant du tissu qui ne réagit qu'à la lumière, par le nitrate à l'obscurité, on supprime au bout de peu de temps la possibilité d'une réaction normale à la lumière.

Par contre, s'il est nécessaire que la réaction s'effectue sur le tissu vivant, on doit admettre qu'une fois déclanchée, elle peut se poursuivre sur les cellules mortes grâce à une action catalytique des produits de la réaction. Personnellement, nous avons pu observer l'extension progressive de la réaction déterminant des sortes de végétations argentiques venant souder en un réseau des plastes voisins (plastés périnucléaires).

N'y a-t-il pas lieu d'ailleurs de penser avec F. WEBER que cette réaction est moins le fait de plastés vivants que de plastés mourants. Selon l'expression de SAVELLI [127], ce serait une réaction „in limine“. Cette supposition est à rapprocher des hypothèses de LEPESCHKIN [89—90] de l'émission de radiations ultraviolettes par le protoplasma mourant.

Les tissus vivants, d'autre part, peuvent ne plus réagir. Ainsi en est-il de feuilles (iris, polypode) conservées en atmosphère humide (GAUTHERET).

La question paraît donc complexe. En dehors de la substance réductrice, ne faut-il pas penser de plus à l'action de substances antagonistes pouvant inhiber la réaction et masquer ainsi le pouvoir réducteur?

La nécessité d'opérer sur tissu vivant laisse entre autres envisager qu'il s'agit d'une substance qui puisse diffuser et dont la concentration en un point est nécessaire. Le fait que les tissus isolés et simplement lavés à l'eau perdent également (GAUTHERET) leur propriété normale, incite également à le penser.

La réaction est, comme on l'a vu, limitée aux chloroplastes et elle est positive dès l'apparition de la chlorophylle. Cependant, elle n'est pas due à la chlorophylle, ni au carotène, ni à la xanthophylle (MOLISCH). Signalons ici que les extraits alcooliques

d'un tissu vert réduisent le nitrate d'argent; cette caractéristique persiste après séparation de la chlorophylle par l'éther de pétrole. Elle pourrait être due en partie à l'acide ascorbique. GAUTHERET considère qu'elle doit être attribuée aux oxyflavones (oxydation rapide à la lumière, précipitation par un sel de plomb). Mais en tout cas selon lui, ce n'est pas à elles qu'on doit attribuer la réaction de MOLISCH du chloroplaste.

CZAPEK a isolé de diverses feuilles certaines substances cristallisables qu'il croit identiques aux depsides de FISCHER, et il suppose que c'est à elles qu'est due la coloration des plastes.

WIELER qui a étudié également cette réaction croit que ce sont les huiles essentielles présentes dans les grains de chlorophylle qui en sont responsables. Il est exact que certaines de ces huiles, comme l'huile cinnamique sont réductrices; leur pouvoir réducteur serait dû à la présence de l'eugénol qui est capable de réduire le nitrate d'argent en une à deux heures, ou à l'iso-eugénol qui agit bien rapidement. Mais, comme le fait remarquer DISCHENDORFER, il est impossible que les plastes chlorophylliens des diverses plantes contiennent d'une façon générale de telles huiles volatiles, car leur présence n'aurait pu échapper aux chimistes.

Deux autres hypothèses ont été émises qui doivent maintenant être examinées: ce sont celle de l'aldéhyde formique et celle de l'acide ascorbique.

Aldéhyde formique. MOLISCH [110—112] a pensé que cette réaction pourrait être due à la présence de formaldéhyde au niveau des plastes. On a admis en effet avec BAEYER [4], bien que d'autres hypothèses soient plausibles, que le premier stade de la synthèse des glucides devait être la formaldéhyde. Les travaux de E. FISCHER qui réussit à synthétiser un sucre, l'acrose, à partir de HCHO , ont confirmé cette possibilité. Pour KLEIN et WERNER, la réalité de l'existence de la formaldéhyde ne fait même pas de doute, puisque l'on pourrait la mettre en évidence par le diméthylidihydrorésorcinol.

Un certain nombre de faits selon GAUTHERET [39] sont en opposition avec cette hypothèse de MOLISCH.

L'augmentation de l'assimilation n'activerait pas la réaction. Après avoir soumis un tissu à un fort éclairage, on n'observe pas de réaction si on le met immédiatement après dans le nitrate et à l'obscurité.

Inversement, l'absence ou la diminution de la photosynthèse peut ne pas modifier la réaction.

On sait que les chloroplastes très jeunes encore à l'état de chondriosomes incomplètement transformés et ne contenant que de très petites quantités de chlorophylle (GUILLIERMOND) [53] sont déjà capables de réduire le nitrate d'argent.

Or, IRVING [77] et BRIGGS [14] ont montré que des feuilles jeunes possédant déjà de la chlorophylle sont cependant incapables d'assimiler; le pouvoir réducteur apparaît donc avant la photosynthèse.

On peut supprimer la photosynthèse par l'obscurité. Or des tiges feuillées d'*Elodea* laissées à l'obscurité pendant 8 jours conservent leur propriété habituelle. La réaction de MOLISCH est encore possible sur les pieds de *Polypodium* et d'*Iris* après 15 jours d'obscurité. Cependant des feuilles âgées d'*Iris* conservées dans les mêmes conditions en atmosphère humide présentent un pouvoir réducteur de leurs chloroplastes diminué: ils ne réduisent plus qu'à la lumière. Cette modification s'observe également sur des feuilles isolées conservées à la lumière: par contre des feuilles dont des cellules ont une membrane épaisse et qui possèdent un épiderme fortement cutinisé telles que celles de *Yucca*, *Hedera* peuvent conserver intégralement leurs propriétés réductrices plus de 15 jours après leur isolement.

A l'obscurité on peut admettre l'absence de formation et la disparition de l'aldéhyde formique: puisque la réaction persiste ce ne serait donc pas lui qui serait en cause.

Par l'anesthésie on supprime la fonction chlorophyllienne: or les Algues anesthésiées présentent encore la réaction de MOLISCH.

On peut enfin supprimer l'assimilation chlorophyllienne au moyen de substances inhibitrices de la photosynthèse (cyanure de potassium ou phényluréthane) selon la méthode de WARBURG. Après plusieurs jours de traitement, les chromatophores continuent à réduire le nitrate d'argent à la lumière.

Ces faits ne sont donc pas en faveur de l'interprétation de MOLISCH.

D'ailleurs les recherches in vitro ne sont pas favorables non plus à l'hypothèse de la formaldéhyde. Il n'est pas possible d'obtenir la réduction immédiate du nitrate d'argent par le formol, ni à chaud ni à froid: même à une lumière intense, la réduction est très lente.

DISCHENDORFER [26—27] a également étudié le pouvoir réducteur des aldéhydes vis-à-vis du nitrate d'argent acidifié. Il a trouvé que les aldéhydes formique et cinnamique et le furfurool sont complètement inactifs. L'acroléine, qui est une aldéhyde chimiquement très active, n'a réduit le nitrate d'argent qu'au bout de cinq jours. Le pouvoir réducteur ne peut pas non plus être attribué à l'aldéhyde des feuilles de CURTIUS et FRANZEN (α - β -hexylenaldéhyde).

Acide ascorbique. On vient de voir que les principales hypothèses envisagées ne semblent pas exactes. L'hypothèse de MOLISCH paraissait cependant bien séduisante. Le fait que la réaction selon GUILLIERMOND s'effectuait d'autant mieux que les plastes étaient en train de former de l'amidon; cela semblait indiquer une relation avec l'évolution des glucides, mais les faits relatés par GAUTHERET en particulier incitent à l'abandonner.

GIROUD, LEBLOND, RATSIMAMANGA [42] ont émis l'hypothèse qu'il pourrait s'agir de l'acide ascorbique. En effet cette réaction s'obtient même avec un nitrate fortement acide, c'est à dire avec un réactif relativement stable et difficile à réduire, celui qui leur a servi à mettre en évidence la vitamine dans la cellule animale (nitrate d'argent 10, eau 100, acide acétique 1). Ils se sont donc demandés si la réaction obtenue avec ce réactif sur les chloroplastes n'était pas la même que celle que l'on obtient chez les animaux sur des éléments cellulaires analogues comme les chondriosomes de diverses cellules.

Ce réactif tout au moins chez l'animal se révèle comme électif pour l'acide ascorbique. Les résultats de l'expérience sur le cobaye rapportés antérieurement le prouvent manifestement. On se rappelle en effet que chez cet animal normalement nourri les organes qui contiennent un certain taux d'acide ascorbique se colorent comme ceux de tous les autres animaux non-carencés. Avec un régime avitaminé on fait disparaître l'acide ascorbique, la coloration des mêmes organes devient négative. L'introduction d'acide ascorbique chez un tel animal, détermine à nouveau la possibilité de la coloration. La réaction est donc bien due à l'a. ascorbique. Bien entendu chez les végétaux, semblable preuve ne peut être fournie: il est malheureusement impossible de faire varier de pareille façon le taux de l'acide ascorbique dans une cellule végétale.

Malgré sa stabilité ce réactif n'a pas une spécificité assez marquée pour être considéré à comme caractéristique de l'acide ascorbique. C'est d'ailleurs cette objection qu'a soulevée GAUTHERET.

Aussi ces auteurs pour soutenir leur hypothèse se sont-ils basés essentiellement sur la relation manifeste qui existe entre la présence de la chlorophylle et celle de l'acide ascorbique. Ils ont comparé d'une façon générale les tissus chlorophylliens aux tissus non chlorophylliens en utilisant la méthode de Tillmans. Ils ont vu que pour chaque plante les tissus verts étaient toujours beaucoup plus riches que les tissus sans chlorophylle. Voici un tableau résumé correspondant à ces dosages comparés sur une quarantaine d'espèces végétales.

Acide ascorbique exprimé en mg. par 100 grammes de tissu frais

	moyennes	moyennes
12 espèces feuilles vertes .	73,2	racines ordinaires 10,5
10 espèces feuilles vertes .	77,2	racines à réserves 10,1
18 espèces feuilles vertes .	128,1	fleurs blanches 57,9

Ces taux élevés accompagnent la chlorophylle et disparaissent avec elle. Ces faits sont généraux ils correspondent aux premières observations de VON EULER, K. KLUSMANN [33], de BESSEY et KING [7] entre autres aux constatations de EGGLETON et HARRIS [30], de HELLER [68], de MATSUOKA [100], aux toutes dernières recherches de GLICK.

L'élévation du taux de l'acide ascorbique observée par GLICK [48] dès le début du verdissement est particulièrement à retenir à cet égard.

Récemment DISCHENDORFER a étudié en détail cette hypothèse après avoir discuté la théorie de WIELER et la théorie de MOLISCH. Il a essayé le réactif argentique sur divers oses et osides sur l' α - β -hexylenaldéhyde isolée par CURTIUS et FRANZEN (aldéhyde des feuilles) [23]. Toutes ces substances sont également inactives vis-à-vis du nitrate d'argent acide.

Seuls, les composés contenant dans leur molécule des groupes hydroxyle ou amine en position para ou ortho réduisent énergiquement et avec une grande rapidité le nitrate d'argent. Ainsi par exemple, l'hydroquinone, la pyrocatéchine, l'o et p-phénylène diamine donnent instantanément des dépôts argentiques.

Le pyrogallol qui a trois hydroxyles rapprochés et l'acide ascorbique qui en a deux, agissent de même. Parmi tous ces composés, seul l'acide ascorbique a une présence générale dans les plantes vertes.

Selon lui, les données chimiques parlent en faveur de l'hypothèse que le noircissement des disques chlorophylliens est bien dû à l'acide ascorbique.

Il peut paraître paradoxal à première vue que l'acide ascorbique hydrosoluble soit localisé justement à la place des disques lipidiques chlorophylliens. Mais il n'en serait rien selon lui. D'après les récentes recherches de BAAS BECKING [3], les molécules de chlorophylle seraient situées à la surface de ces disques lipidiques, juste contre le stroma incolore aqueux des plastes chlorophylliens. Le reste phytyle de ces molécules serait dirigé vers la phase lipodique, tandis que l'autre partie de la molécule est orientée vers le stroma aqueux. A ce niveau de séparation se formeraient les produits normaux d'assimilation comme le sucre et l'amidon. On peut supposer selon DISCHENDORFER [26—27] que là aussi se formerait l'acide ascorbique par un processus d'assimilation un peu modifié, soit directement, soit par déshydrogénation d'une molécule de sucre. L'acide ascorbique serait donc un produit d'assimilation situé en contact plus ou moins intime avec la chlorophylle. Il circulerait ensuite à travers le stroma aqueux du chloroplaste, traverserait sa membrane et passerait ensuite dans le suc cellulaire.

Il reste possible de tout ce qui précède que l'acide ascorbique soit responsable de pouvoir réducteur des plastes. Peut-être des faits nouveaux permettront de le vérifier. En tous cas, il est à peu près certain que l'acide ascorbique existe dans le cytoplasma de la cellule végétale soit dans le protoplasma lui même soit dans certains organites comme les chloroplastes.

Il est certain que l'ensemble des documents (voir aussi page 144) prouve une relation entre la fonction chlorophyllienne et la présence de taux élevés d'acide ascorbique. A son tour les relations physiologiques rendent d'autant plus admissible sa localisation au point même où a lieu le processus de la photosynthèse.

Répartition dans les divers tissus végétaux

La constitution d'un végétal, supérieur surtout, est relativement complexe. Les cellules qui le composent n'ont pas la même valeur, tant s'en faut: elles présentent des caractéristiques morphologiques et fonctionnelles très différentes. On peut ainsi distinguer des cellules peu différenciées, en voie de prolifération: les méristèmes, des parenchymes dont l'importance fonctionnelle est souvent considérable: parenchymes assimilateurs, parenchymes de réserve, les tissus sécréteurs, les tissus de soutien comme le collenchyme et le sclérenchyme ce dernier n'étant qu'un tissu mort, des tissus conducteurs (tissus vasculaires: vaisseaux du bois et du liber) enfin des tissus de revêtement ou de protection: épidermes avec leurs parois cutinisées, tissus subéreux qui ne sont bientôt que des tissus morts, enfin les tissus reproducteurs.

La répartition de l'acide ascorbique n'est malheureusement pas encore bien établie dans ces divers tissus. Les données chimiques ou autres ne sont que fragmentaires.

On peut avancer cependant que certains de ces tissus doivent être complètement dépourvus de vitamine, tel doit être le cas des tissus morts (tissus subéreux et sclérenchymes). STROHECKER d'ailleurs (1935) [135] a pu observer que chez les arbres (*Fagus sylvatica*, *Betula alba*, *Quercus robur*), le bois et l'écorce n'ont aucun pouvoir réducteur.

Les tissus glandulaires, d'après STROHECKER, seraient très riches, mais il se base seulement sur la réduction du nitrate d'argent acide (feuille de *Betula alba*).

Les tissus épidermiques présentent un pouvoir réducteur élevé au dichlorophénol.

Nous avons trouvé par exemple les chiffres suivants exprimés en mg. pour 100 grammes de tissu.

<i>Brassica oleracea</i> (pétiole) total	6,5
épiderme	9,4
<i>Allium cepa</i> . Ecaille du bulbe totale	7
Ecaille sans épiderme	6
Epiderme.	12

Ces faits ne doivent-ils pas être rapprochés de la haute teneur observée chimiquement et biologiquement dans les péricarpes de nombreux fruits. (Voir page 143).

Méristèmes

Les méristèmes, c'est-à-dire les tissus indifférenciés et en multiplication, présentent un taux appréciable.

Des microdosages de GLICK sur des jeunes plantules d'orge, on peut tirer quelques renseignements: en effet, il a dosé au dichlorophénol-indophénol à des stades divers et dès la germination les différentes parties de jeunes plantules d'orge. De ses courbes (voir page 121), on peut déduire que les pointes des racines contiennent environ 20 mg. d'acide ascorbique pour 100 gr. Ce taux peu élevé est néanmoins supérieur à celui qu'il observe dans le tronc de la racine où il n'y aurait guère que 4 mg. pour 100 gr. Mais il faut dire que ces chiffres sont discutables, l'extrémité des racines étant légèrement verte du fait de la coiffe.

Nous avons eu l'occasion de doser également selon la méthode de Tillmans des extrémités de jeunes bourgeons de *Solanum tuberosum* qui avaient poussé sur des tubercules à l'obscurité. Voici ces chiffres en milligrammes pour 100 gr.:

extrémité terminale du bourgeon	10
partie inférieure du bourgeon	15
zone d'implantation du bourgeon	9
centre du tubercule	9,8

Des dosages portant sur des racines d'*Allium cepa* donnent:

extrémité terminale de la racine	28,6
corps de la racine	26,2

Parenchyme chlorophyllien

Les parenchymes chlorophylliens et d'une façon plus générale les tissus pourvus de chlorophylle sont riches en acide ascorbique. Nous avons antérieurement (voir page 112) parlé de la localisation possible de cette substance au niveau des chloroplastes, nous n'y reviendrons pas. Nous ne donnerons ici que les faits chimiques ou biologiques qui démontrent la richesse de ces tissus.

Diverses pratiques anciennes l'avaient indiquée; les recherches récentes concernant le pouvoir antiscorbutique des principaux aliments végétaux la prouvent nettement.

On trouve dans l'exposé général des données de la littérature réunies par L. RANDOIN et SIMONNET une série de documents. Voici une liste assez révélatrice d'aliments végétaux avec leur valeur antiscorbutique d'après SCHEUNERT [131] et HAHN [58], empruntée à TILLMANS, HIRSCH et JACKISCH [143].

Plantes	Valeur antiscorbutique ¹⁾	
	d'après SCHEUNERT	d'après HAHN (unités cobaye)
chou vert	très bon	150
chou blanc	très bon	33
chou de Bruxelles	très bon	100
chou de Milan (mars)	très bon	—
chou de Milan (juin)	très bon	—
choufleur	très bon	—
laitue	très bon	33
mâche	—	40
persil	—	200
ciboulette	—	100
rhubarbe	bon	—
kohlrabi vert (feuille)	bon	200
„ „ racine	bon	—
asperge	très bon	25
pois vert	très bon	33
haricot demi sec	bon	15
tomate	suffisant	20
concombre	très bon	12
carotte	bon-faible	20
carotte ronde	très bon	33
betterave rouge	—	20
betterave	faible	—
raifort	faible	200
radis noir	—	20
radis	—	50
pomme de terre	très bon	10—20

Ce tableau révèle qu'à part le raifort, le pouvoir antiscorbutique est surtout marqué dans les légumes verts.

Diverses observations semblent aussi assez significatives. HELLER [68] qui a étudié par la méthode biologique la germination de graines dans diverses conditions (obscurité, lumière) a vu qu'il

¹⁾ L'unité cobaye de HAHN est obtenue en divisant 100 par la dose protectrice minima.

Pour SCHEUNERT très bon = 3 gr. par jour protège le cobaye
 bon = 4—10 gr. „ „ „ „ „ „
 faible = 11—25 gr. „ „ „ „ „ „

se forme toujours plus de vitamine dans les plantes germées à la lumière que dans celles qui le sont à l'obscurité. Bien qu'il ne parle pas de chlorophylle, il est vraisemblable que c'est à la présence ou à l'absence de cette dernière que cette différence est due.

BESSEY et KING (1933) [7] ont dosé par la méthode chimique et biologique une série de plantes et ont remarqué le taux élevé des tissus chlorophylliens.

méthode de TILLMANS mg. par gramme	d'après essai biologique mg. par gramme
poivre rouge 2,30 —
poivre vert 1,80 1,0
persil 1,76 —
jus de tomate 0,23 0,20—0,30
pommes de terre vieilles. . . 0,08 0,05—0,07
pommes de terre nouvelles . . 0,17 0,15—0,20
chou nouveau 0,40 0,50—0,70
laitue 0,05 0,05—0,07
cresson 0,54 0,50—0,60
rhubarbe 0,21 0,20—0,25
épinard frais 0,62 0,5 —0,6
pois frais 0,16 0,2 —0,3
fèves vertes 0,12 0,15—0,2

EULER et KLUSSMANN [33] ont avancé que l'on pouvait distinguer trois groupes d'organes végétaux riches: les fruits, surtout les fruits acides comme le citron, les organes riches en hydrates de carbone comme la pomme de terre et la carotte, les parties vertes des plantes.

GIROUD, RATSIMAMANGA et LEBLOND (1934 et 1935) [43—45] en se basant en particulier sur l'absence de vitamine dans des plantes hétérotrophes comme les champignons, ont pensé qu'il devait y avoir une relation générale entre l'acide ascorbique et la chlorophylle. Dans le but de vérifier cette hypothèse ils ont effectué en série avec la méthode de Tillmans des dosages sur les divers tissus pourvus de chlorophylle en les comparant dans la même plante avec ceux qui en sont dépourvus.

Dosages comparatifs entre feuilles et racines: méthode de Tillmans l'acide ascorbique est exprimé en mg. pour 100 gr. de tissus frais.

	feuilles	racines
<i>Zea mais</i>	96	5
<i>Lactuca sativa</i> (laitue)	31	8
<i>Cichorium Endivia</i> (chicorée)	49	4
<i>Apium graveolens</i> (céleri)	58	6
<i>Dahlia variabilis</i>	43	6
<i>Nasturtium officinale</i> (cresson)	141	51
<i>Medicago sativa</i> (luzerne)	232	20
<i>Allium porrum</i> (poireau)	66	4
<i>Tragopogon</i> sp. (salsifis)	80	6
<i>Hyacinthus</i> sp. (jacinthe)	51	12
<i>Allium cepa</i> (oignon)	22	2
<i>Anthurium andreanum</i>	10	2
	feuilles	racines à réserve
<i>Beta vulgaris</i> (betterave)	47	6
<i>Brassica napus</i> var. <i>esculenta</i> (navet)	176	6
<i>Cochlearia armoracia</i> (raifort)	73	36
<i>Raphanus sativus</i> (radis)	69	17
<i>Scorzonera</i>	80	6
<i>Apium graveolens</i> (céleri rave)	96	19
<i>Pastinaca sativa</i> (panais)	82	3
<i>Daucus carota</i> (carotte)	47	6
<i>Orchis bifolia</i>	37	0,1
		tubercule
<i>Solanum tuberosum</i> (pomme de terre)	65	2

D'après ce tableau les tissus verts des feuilles s'avèrent toujours nettement plus riches que les parenchymes achlorophylliens.

De la comparaison entre des feuilles vertes et des pétales qui ne sont que des feuilles modifiées il résulte des conclusions analogues.

	acide ascorbique en mg. p. 100 gr. de tissu frais	
	feuilles	fleurs blanches
<i>Rosa</i> sp.	188	52
<i>Dahlia variabilis</i>	25	12
<i>Chrysanthemum</i> sp.	28	16
<i>Lilium album</i>	3	1
<i>Polyanthes tuberosa</i>	633	391
<i>Galanthus nivalis</i>	41	21
<i>Prunus</i> sp.	137	93
<i>Erica hemalis</i>	77	46
<i>Hyacinthus botrytis</i>	149	69
<i>Anthemis</i> sp.	20	3
<i>Dianthus</i> sp.	86	86
<i>Tulipa</i> sp.	40	52
<i>Convallaria majalis</i>	20	40
<i>Viola</i> sp.	159	82
<i>Syringa</i> sp.	99	19
<i>Arum</i> sp.	73	(périanthe) 43
<i>Gladiolus</i> sp.	496	11
<i>Azalea</i> sp.	32	5

Dans les feuilles panachées en isolant les parties vertes et les parties blanchâtres, on retrouve une différence de même ordre, mais moins marquée.

	parties vertes	parties jaunes ou blanches
feuilles d' <i>Aucuba japonica</i>	118	116
„ de <i>Ligustrum vulgare</i>	114	96
„ de <i>Abutilon Savitzi</i>	45	42
„ de <i>Pelargonium zonale</i>	59	56
„ de <i>Glechoma hederacea</i>	82	22
„ d' <i>Aspidistra</i> sp.	63	41

Dans certaines feuilles, on a dosé séparément les parties chlorophylliennes et les parties achlorophylliennes (pétioles ou parties inférieures): les résultats sont les mêmes que précédemment.

	partie verte	partie blanche
<i>Allium porrum</i>	40	10
<i>Avena sativa</i> (en voie de développe- ment)	52	35
<i>Taraxacum dens leonis</i>	72	2
<i>Beta vulgaris</i> (bette carde)	90	6

La comparaison de tissus foliaires développés à l'obscurité et à la lumière et celle de feuilles normales et en involution automnale révèlent également des faits analogues.

Cette différence se retrouve entre plantes totales à chlorophylle (autotrophes) et plantes sans chlorophylle (hétérotrophes)¹⁾.

<i>Viola tricolor</i>	136	<i>Neottia nidus avis</i>	11
<i>Capsella bursa pastoris</i>	50	<i>Orbanche amethystea</i>	2
<i>Zygnera</i>	40	<i>Monotropa hypopitys</i>	6

D'une façon générale donc les tissus chlorophylliens ont des taux élevés et très supérieurs à ceux des tissus sans chlorophylle.

Ils en concluent à une relation très générale entre l'ac. ascorbique et la chlorophylle ou plutôt avec la fonction chlorophyllienne.

Cependant on peut constater quelques exceptions (*Tulipa*, *Convallaria majalis* etc.) où le rapport normal peut se trouver modifié ou même inversé. Ces derniers cas mériteraient d'être soumis à des recherches de contrôle avec les méthodes autres que celles de Tillmans.

Signalons que tout récemment (1938) MIRIMANOFF [108 bis et ter] en se basant sur certaines de ces exceptions s'élève contre une relation entre la chlorophylle et l'ac. ascorbique.

L. RANDOIN et GIROUD avec LEBLOND (1935) [119—120] puis avec RATSIMAMANGA [121] ont contrôlé ces faits par la méthode biologique. Pour cela, ils ont donné à des cobayes au régime carencé (régime RANDOIN) des quantités égales (petites quantités au voisinage de la dose protectrice) de tissus chlorophylliens et non chlorophylliens prélevés sur la même plante, et ils ont observé le comportement physiologique de ces cobayes, leurs lésions scorbutiques s'il y avait lieu et le taux de leurs organes. Leur essais ont été effectués avec les plantes suivantes:

¹⁾ Ces chiffres sont obtenus au Tillmans. La différence serait encore plus grande avec la méthode plus spécifique au bleu de méthylène, qui ne révèle que très peu ou pas du tout d'acide ascorbique chez les plantes hétérotrophes.

Daucus carota (feuille verte et racine), *Brassica napus*, var. *esculenta* (feuille verte et racine), *Scorzonera hispanica* (feuille verte et racine), *Cichorium endivia* (feuille verte, racine et feuille étiolée), *Lactuca sativa* (feuilles périphériques vertes et feuilles blanches du coeur), *Allium porrum* (partie verte et partie blanche de la feuille), *Beta vulgaris* (variété Poirée [limbe vert et pétiole blanc], *Taraxacum dens leonis* (feuille verte et blanche).

Les parties vertes se sont comportées d'une façon générale comme plus riches en vitamine C: tous les résultats ont été concordants sauf pour la laitue. MUNSELL et KENNEDY (1936) [113] ont trouvé également que les feuilles centrales de la laitue sont équivalentes ou légèrement supérieures au point de vue antiscorbutique aux feuilles périphériques. Cette exception est certainement dûe à ce que le plus souvent ces feuilles centrales sont riches en caroténoïdes (voir page 133).

Dans une dernière expérience, ces mêmes auteurs ont comparé les folioles (dentelures du limbe) du *Taraxacum dens leonis* vertes et blanches (étiolées). Les folioles vertes se sont encore comportées comme plus antiscorbutiques (courbe de poids normal, lésions scorbutiques minima) que les folioles blanches (chute du poids, lésions considérables). Simultanément la charge des organes en acide ascorbique a été également très supérieure (16 mg. 70 dans la surrénale avec les parties vertes au lieu de 5 mg. 20 avec les parties blanches).

Il n'y a donc pas de doutes que les tissus verts sont plus riches en acide ascorbique que les parenchymes ordinaires. En général leur taux est assez élevé. Couramment, il est au voisinage de 100 mg. pour 100 gr. de tissus frais. Souvent, il est très au-dessus.

IJDO (1935—1936) [74—76] a également remarqué la richesse des tissus chlorophylliens et il envisage une relation directe entre la photosynthèse et l'acide ascorbique.

Par ailleurs, c'est la richesse des tissus chlorophylliens qui explique les nombreux essais d'infusions ou d'extraits de feuillages en particulier de Gymnospermes, effectués pour des buts pratiques: feuilles de l'épicéa HAHN (1933) [59] du pin, GRJASNOW et ALEXEJEWA (1934) [50] du sapin, SCHEPILEWSKAJA (1934) [129—130], ORLOW (1935) [115], MATZKO (1936) [102].

Rappelons que c'est à partir de la feuille de chou que BEZSSONOFF [8] avait cherché à isoler la vitamine C. Ce fut aussi un des

objets utilisés par SZENT-GYÖRGYI [138]. Signalons enfin que c'est au départ de la feuille d'*Iris* que BAUMANN et METZGER [5] ont effectué leur préparation d'acide ascorbique.

Ces faits signifient qu'il doit y avoir une relation avec la photosynthèse soit que l'acide ascorbique en dérive, soit plutôt qu'il participe à ce processus fondamental (voir page 144).

Parenchymes non chlorophylliens

Les parenchymes non chlorophylliens sont à l'encontre des tissus chlorophylliens, relativement pauvres en acide ascorbique, mais ils n'en sont pas dépourvus. Les preuves biologiques de la présence de l'acide ascorbique ont été maintes fois données et la valeur antiscorbutique de certains d'entre eux en particulier a été bien établie.

Tout ce que nous avons dit antérieurement (voir page 125) nous permet d'être brefs. Nous ne ferons donc que quelques remarques.

Le taux moyen de ces tissus doit être fixé aux environs de 4 mgr. par 100 gr. Les taux maxima peuvent s'élever à 50 mgr. (inflorescence du chou-fleur), les minima peuvent descendre au voisinage de 1.

Tous ces tissus sans chlorophylle ne sont pas équivalents. Il est vraisemblable qu'il y a suivant la constitution et les enclaves de ces tissus, des variations de taux mais les documents ne sont pas suffisants pour l'affirmer.

De plus ces valeurs ne sont pas complètement indépendantes de celles des autres tissus de la plante. Il semble bien qu'il y ait dans un même végétal une connexion entre le taux de ces tissus achlorophylliens et celui des tissus chlorophylliens. C'est ce qui ressort en particulier de dosages comparés de feuilles racines et de feuilles pétales (voir page 129). On y voit que d'une façon générale le taux des parenchymes s'élève lorsque celui des parenchymes verts s'élève et vice versa.

Des connexions analogues ont été observées entre des fruits et des feuilles. DOWE et MURPHY (1936) [28] ont dosé des feuilles de deux sortes de pommiers l'un à fruit très riche, l'autre à fruit pauvre. Les feuilles de l'arbre à fruit riche (5 à 6 fois plus riche que le second) contiennent beaucoup plus d'acide ascorbique que celui à fruit pauvre 112 mgr. pour 100 gr. au lieu de 74,5 mg. seulement.

Ces faits traduisent un passage de vitamine d'un tissu dans l'autre: une migration analogue à celle observée pour les sucres. Ces déplacements ont été observés au cours de la germination.

Les cotylédons de l'embryon germé contiennent une quantité importante d'acide ascorbique; si on les supprime le taux baisse dans le reste de l'embryon (RAY) [123]. Par contre l'addition de cette substance (v. HAUSEN) [64] rétablit ce taux en assurant le développement. Ces faits s'expliquent: l'acide ascorbique des cotylédons est nécessaire à cette croissance: normalement il passe de ceux-ci dans l'embryon proprement dit.

Plantes sans chlorophylle. Un autre point doit attirer notre attention, s'il est bien établi que tous les tissus sans chlorophylle des plantes à chlorophylle présentent des taux peu élevés, mais indiscutables d'acide ascorbique, on peut se demander s'il en est de même pour les tissus des phanérogames complètement dépourvus de chlorophylle c'est à dire des plantes hétérotrophes comme certaines Orchidées ou Monotropées et comme les *Orobanchées*? Les titrations au dichlorophénol-indophénol donnent des valeurs assez semblables à celles des autres tissus sans chlorophylle des plantes autotrophes. Après défécation au nitrate mercurique on retrouve toujours un corps réducteur, mais s'agit-il cependant d'acide ascorbique. Chez les champignons ce réactif révèle un pouvoir réducteur, mais il ne s'agit pas de vitamine C. MATTEI [101] et HARA [60], STEIDLE [134], SCHEUNERT [131], MENTZER et VIALARD-GOUDOU [106]. Il y a donc lieu particulièrement dans ce cas d'être prudent et d'attendre une confirmation par d'autres méthodes: les quelques expériences biologiques que nous avons tentées en particulier sur des *Orobanches* paraissent indiquer la présence d'une substance antiscorbutique mais elles ne sont pas suffisantes.¹⁾

Tissus à caroténoïdes

Il faut ici dire quelques mots des tissus qui renferment des caroténoïdes bien qu'ils n'aient à proprement parler ni individualité morphologique, ni physiologique. Ces tissus sont toujours très riches: aussi semble-t-il qu'il y ait une liaison entre la

¹⁾ Il est bon d'ajouter que dans ces plantes la méthode au bleu de méthylène ne paraît pas révéler la présence d'acide ascorbique. Il en serait de même d'ailleurs pour *Monotropa hypopitys*.

présence dans une même cellule de caroténoïdes et l'existence d'un taux élevé d'acide ascorbique. Cette richesse est prouvée par nombre de faits.

Les résultats biologiques sont plutôt favorables à cette notion. A titre d'exemple citons le cas du fruit du *Sorbus aucuparia* qui est riche d'après HAHN [59] tandis que le fruit du *Sorbus domestica* d'après CASERIO [16] contient 4 ou 5 fois moins d'acide ascorbique que le jus de citron. Comme source d'extraction de la vitamine C les auteurs après divers essais, utilisent les tissus à caroténoïdes. C'est ainsi que SVIRBELY et SZENT-GYÖRGYI (1933) [138] ont adopté le *Capsicum annum* devenu rouge par maturation et que nombre d'auteurs (TILLMANS, J. HIRSCH, P. et VAUBEL R. (1933) [144], N. V. IVANOF, V. J. MARGA et ONOCHOVA (1934) [78], SCHMIDT et TOULTCHINSKAIA (1937) [132] ont utilisé le fruit mûr de l'églantier (*Rosa* sp.).

Les dosages d'ensemble sur une série de fruits (GIROUD, RATSIMAMANGA et LEBLOND (1935—1936) [44—46] sont assez convaincants.

Taux dans divers types de fruits. Acide ascorbique en mg. par 100 gr. de matière fraîche Méthode de TILLMANS. Les fruits marqués d'une lettre sont ceux chez lesquels les caroténoïdes ont été mis en évidence et étudiés par divers auteurs.

<i>Aria torminalis</i>	0,4	<i>Vitis vinifera</i> var. bleue . . .	4
<i>Prunus domestica</i> (ordinaire)	1	<i>Citrullus vulgaris</i>	4
<i>Ficus carica</i>	2	<i>Prunus domestica</i> var. Reineclaudé	4
<i>Sechium-edule</i>	2	<i>Pirus communis</i>	5
<i>Litchi sinensis</i>	2	<i>Prunus domestica</i> var. du Cap	7
<i>Mespilus germanica</i>	2	<i>Persea gratissima</i>	7
<i>Ilex aquifolium</i>	2	<i>Musa sapientum</i>	7
<i>Malus communis</i> var. Calville	2	<i>Anona reticulata</i>	8
<i>Cucumis sativus</i> (concombre)	3	<i>Persica vulgaris</i>	8
<i>Malus communis</i> (pom. ordin.)	3	<i>Juniperus communis</i>	9
<i>Sorbus domestica</i>	3	A— <i>Taxus baccata</i> (arille, hiver)	10
<i>Malus communis</i> var. Canada	4	<i>Berberis vulgaris</i>	14
<i>Vitis vinifera</i> var. blanche	4	<i>Solanum pseudo-capsicum</i>	13
		B— <i>Citrus decumana</i> var. pamplemousse	14

C— <i>Curcubita pepo</i> (citrouille)	14	B— <i>Citrus aurantiacus</i> ord.	50
D— <i>Prunus armeniaca</i>	16	L— <i>Physalis alkekengi</i>	55
<i>Pirus cydonia</i>	16	B— <i>Citrus aurantiacus</i> var.	
<i>Prunus cerasus</i> (cerise)	17	<i>malgache</i>	56
E— <i>Diospyros kaki</i>	20	<i>Fragaria elatior</i>	66
F— <i>Cucumis citrullus</i>	20	<i>Fragaria vesca</i>	87
<i>Ribes uva crispera</i>	21	Q— <i>Convallaria majalis</i>	91
<i>Hedera helix</i>	22	<i>Aria</i> sp.	105
B— <i>Arum maculatum</i>	23	M— <i>Evonymus europaea</i> arille	102
C— <i>Citrus aurantiacus</i> var.		<i>Aucuba japonica</i>	106
<i>Kurtas</i>	26	N— <i>Solanum dulcamara</i>	135
<i>Citrus madurensis</i> (man- darine)	30	<i>Ribes nigrum</i>	136
<i>Lonicera caprifolium</i>	32	B— <i>Citrus aurantiacus</i> var.	
H— <i>Lycopersicum esculentum</i>	33	<i>Maroc</i> (écorce)	145
I— <i>Sorbus aucuparia</i>	35	P— <i>Capsicum annuum</i> var. lon- gue	199
<i>Ruscus aculeatus</i>	40	P— <i>Capsicum annuum</i> var. ronde	207
J— <i>Tamus communis</i>	42	P— <i>Capsicum annuum</i> var. douce	239
K— <i>Lycium barbarum</i>	43	R— <i>Asparagus</i>	297
B— <i>Citrus Limonum</i> (citron)	48	O— <i>Rosa rubiginosa</i>	312
<i>Crataegus oxyacantha</i>	49	O— <i>Rosa canina</i>	459
<i>Ribes rubrum</i>	50		

D'une façon générale, bien qu'il y ait quelques exceptions, les fruits riches sont les fruits à caroténoïdes.

Les mêmes différences se retrouvent entre les tissus floraux à caroténoïdes et ceux qui en sont dépourvus.

Voici quelques dosages de parties florales ou sporifères:

<i>Lilium candidum</i> , périanthe	16	Pollen	41
<i>Rosa</i> , pétale blanc	31	Pollen	70
<i>Tulipa</i> , perianthe blanc	64	Pollen	190
<i>Arum maculatum</i> , spathe blanche	37	Pollen	53
<i>Equisetum arvense</i> , pédoncule blanc sporifère	6	Organe sporifère	40

Les faits semblent donc assez généraux; cependant à la suite de la constatation récente d'exceptions, MIRIMANOFF (1938)

[108 ter] conteste la relation entre l'acide ascorbique et les caroténoïdes.

Nous avons pensé conformément à l'hypothèse de v. EULER et de HUSZAK que ces taux élevés pouvaient dépendre avant tout du pouvoir antioxydant des caroténoïdes. Cependant, d'autres phénomènes peuvent intervenir.

C'est ainsi que DISCHENDORFER [26—27] pense que l'on doit rattacher les taux élevés de certains fruits à l'activité antérieure de la fonction chlorophyllienne, car d'après lui la teneur en acide ascorbique ne peut augmenter après la disparition de la chlorophylle. Selon lui on doit donc distinguer d'une façon générale deux types de fruits. D'une part, les fruits charnus, riches en parenchyme, mais dont les couches assimilatrices sont relativement minces (pomme, poire etc.) et qui contiennent peu de chlorophylle. Ceux-ci pauvres en chlorophylle à l'état vert, seront pauvres en vitamine à la maturation. D'autre part, les fruits (rosier, paprika etc.) dont la paroi est entièrement assimilatrice avant la maturation et par suite riche en chlorophylle; ces derniers qui non mûrs étaient riches en chlorophylle, seront également riches en vitamine à leur maturation.

Cette conception d'une origine chlorophyllienne indirecte est soutenable; cependant, elle paraît se heurter au fait que la concentration de l'acide ascorbique augmente réellement dans les fruits à caroténoïdes au cours de la maturation.

Ainsi BOMSKOV [11] relate que les doses prophylactiques nécessaires de la tomate verte sont beaucoup plus fortes que celle de la tomate rouge; elle contient donc beaucoup moins de vitamine C.

STROHECKER [135] qui a dosé les fruits de l'églantier (*Rosa*) à divers stades d'évolution donne les résultats suivants qui montrent l'accroissement du taux de vitamine.

Tableau des variations du taux dans le fruit du rosier. Le pouvoir réducteur est exprimé en centimètres cubes d'indophénol à 0,001 N pour 10 gr. de substance.

fruits verts	25. Juin	100 ccm
fruits verts	19. Juillet.	127 ccm
fruits verts	7. Août	120 ccm
fruits verts en mat.	20. Août	220 ccm
fruits mûrs	17. Septembre	330 ccm

Il semble aussi que parallèlement le taux des feuilles s'élève passant de 400 (20 Août) à 550 (25 Sept.).

Nos dosages au dichlorophénol-indophénol indiquent également l'élévation du taux au cours de la maturation des fruits à caroténoïdes.

Acide ascorbique en mg. pour 100 gr.

	fruits verts	fruits mûrs
<i>Ruscus aculeatus</i>	5	40
<i>Solanum esculentum</i>	12	33
<i>Tamus communis</i>	21	42
<i>Solanum pseudo-capsicum</i>	25	47
<i>Lonicera caprifolium</i>	28	32
<i>Citrus aurantium</i>	45	50
<i>Solanum dulcamara</i>	116	135
<i>Capsicum annum</i>	174	237
<i>Rosa rubiginosa</i>	180	312

Les résultats des extractions sont du même ordre. C'est ainsi que d'après SZANYI (1935) [137], le fruit vert du paprika hongrois renferme 400 mg. par kilog; le fruit brun 800 à 2.000 mg. et le fruit rouge 1048 à 2100 mg. par kilog.

Ces documents semblent établir l'augmentation de la teneur des fruits à caroténoïdes au cours de leur maturation. Ceci ne veut pas dire que l'acide ascorbique prenne entièrement naissance in situ: — On peut envisager également qu'il vienne se déposer dans ces tissus et qu'il s'y accumule du fait qu'il est protégé contre des phénomènes d'oxydation par les caroténoïdes présents.

Des faits semblables se constatent même dans des plantes entières: ainsi pourrait-on interpréter comme le résultat d'une protection le taux élevé d'une plante sans chlorophylle, mais fortement colorée par des caroténoïdes le *Cytinus hypocystis*.

C'est encore ce que l'on observe dans certains cas sur des tissus poussés à l'abri de la lumière. Dans ces conditions, il ne se développe pas de chlorophylle; mais deux évolutions sont à envisager: comme nous l'avons constaté sur de jeunes plants de blé: ou bien il se forme des caroténoïdes qui colorent fortement le tissu, et dans ce cas il est riche en acide ascorbique; ou bien, il ne se développe pas de caroténoïdes et le tissu est pauvre.

Dans les tissus verts qui contiennent toujours des caroténoïdes, comme on le sait, il existe des faits qu'il y a peut-être lieu de citer ici. IJDO [76] au cours de ses recherches sur l'action d'engrais sur la feuille d'épinard a pu montrer une augmentation corrélative du carotène et de l'acide ascorbique en fonction de N. Par contre, il y a une dissociation entre ces deux éléments en fonction de K.

Cette relation entre les caroténoïdes et l'a. ascorbique est d'ailleurs générale puisqu'on la retrouve chez les animaux (VON EULER et HUSZAK). Chez les mammifères, les organes les plus riches en vitamine C sont presque tous des organes qui contiennent des caroténoïdes: corps jaune (ESCHER), surrénale (BAILLY et NETTER), (RANDOIN et NETTER), testicule (NETTER). HUSZAK en particulier, à propos du corps jaune a bien rapproché la richesse de ce tissu et sa teneur en carotène des cas comparables du fruit du paprika et de l'églantier. Pour lui, ce parallélisme laissait présumer une relation fonctionnelle. Il signalait en particulier à cet égard le fait de l'oxydation de solutions aqueuses de carotène en présence d'acide ascorbique.

Chez les invertébrés, on retrouve aussi une juxtaposition analogue.

Il est possible que la richesse des tissus à caroténoïdes relève de plusieurs facteurs: accumulation, transports. Le plus important toutefois doit être un phénomène de protection de l'acide ascorbique contre une oxydation comme l'ont supposé VON EULER et HUSZAK.

Les pigments caroténoïdes constitueraient des corps à oxydation réversible: la forme oxydée formerait avec la forme réduite un système oxydo-réducteur assurant un certain potentiel et doué d'un certain pouvoir tampon. Telle serait l'hypothèse de B. v. EULER et H. v. EULER et de KARRER [32] à laquelle les observations de KUHN et DRUMM [84] sur l'oxydation réversible de la dihidrométhylbixine en méthylbixine donnent un fondement expérimental.

La présence en quantités importantes de caroténoïdes assurerait ainsi une véritable protection de l'acide ascorbique dans la cellule. De fait, ce sont seulement les tissus à caroténoïdes chez lesquels l'acide ascorbique se conserve longtemps (après séparation de la plante) et même après dessiccation.

Variations au cours de la vie de la plante et répartition dans ses diverses parties

Au cours de la vie de la plante, il se produit des variations fort importantes de l'acide ascorbique. Elles apparaissent dès le début et se manifestent chaque fois que les diverses parties fondamentales du végétal prennent leurs caractères propres.

Certaines de ces variations se produisent au moment de la germination de la graine, d'autres apparaîtront en même temps que la chlorophylle. De nouvelles modifications se manifesteront avec la floraison et d'ultimes enfin avec l'évolution même du fruit.

Partant souvent de zéro, le taux de l'acide ascorbique avec de grandes fluctuations finit par y revenir soit avec la mort des tissus, soit avec leur mise en état de vie latente.

Graine et germination

Les graines ne contiennent pas en général d'acide ascorbique. Il y a cependant quelques exceptions: c'est par exemple le cas des graines de tomate et de paprika qui en renferment des quantités appréciables. La preuve a été faite de tout temps que l'usage des graines sèches ou des farines qui en dérivent permettent l'éclosion du scorbut: elles n'ont aucun pouvoir antiscorbutique. Ainsi selon HESS (1916) [69] le germe de blé n'a aucune activité antiscorbutique. Selon COHEN et MENDEL (1918) [22] les farines n'en possèdent pas davantage.

Au contraire, toutes les graines germées possèdent un pouvoir antiscorbutique net. C'est ce qu'ont bien montré en particulier avec la méthode biologique: CHICK et DELF [21], FÜRST [37], HARDEN et ZILVA [61], MAC CLENDON, COLE, ENGSTRAND et MIDDLEKAUF [104], WEILL et MOURIQUAND [157—158].

WEILL et MOURIQUAND par exemple ont vu qu'avec de l'orge en voie de germination on obtient indépendamment de la production de feuilles un aliment qui préserve le cobaye alors qu'il n'en est pas de même avec les mêmes graines à l'état quiescent. Elles possèdent ce caractère même lorsqu'elles sont nées à l'obscurité: EGGLETON et HARRIS [30], HELLER [68]. MATSUOKA [100] a fait récemment des constatations analogues.

Voici quelques résultats de STROHECKER (1935) [135] sur l'orge en germination exprimés en centimètres cubes de dichlorophénol pour 10 grammes.

Orge non germé	0 ccm.
Orge germé au bout de 3 jours . .	1 „
„ „ „ „ „ 4 „ . .	1 „
„ „ „ „ „ 5 „ . .	5 „
„ „ „ „ „ 7 „ . .	12 „

Pour les graines autres que celles des céréales, il en est de même. Le haricot germé selon WITTSIRE (1918) [160] possède un pouvoir antiscorbutique marqué. Il en est de même pour le pois germé CHICK et DALYELL (1919) [20]; HOLST et FRÖHLICH (1907) et (1912) [72—73].

H. VON EULER et E. KLUSSMANN [33] ont dosé avec la méthode de Tillmans des haricots non germés et germés: avec les premiers ils trouvent un chiffre très faible qu'ils ne considèrent pas comme de l'acide ascorbique. Au contraire au 4^o et 14^o jours de la germination ils trouvent des chiffres considérables.

HARRIS et RAY (1933) [63] avec la méthode de Tillmans ont montré également que le taux de l'a. ascorbique augmente parallèlement à la germination.

graines de pois.	mg. par gr.	mg. par grain ou p. pousse
gr. graines de pois avant germination	0,00	0,00
„ trempées: depuis 24 h. non germée	0,08	0,02
„ „ „ 48 h. germées . .	0,69	0,21
„ „ „ 72 h. „ . .	0,82	0,26
„ „ „ 96 h. „ . .	0,86	0,27

D'autre part, comme ces mêmes auteurs font remarquer, le pouvoir réducteur sur le dichlorophénol des cotylédons des plantules germées est peut-être en partie dû à de la cystéine; ce qui correspondrait aux observations de JOHNSON (1933) [79] qui trouve que le pouvoir réducteur (dichlorophénol) est supérieur au pouvoir antiscorbutique. VAN EEKELEN, EMMERIE et WOLFF [29] pensent également qu'il y a d'autres substances réductrices. Selon AHMAD [1] dans les graines des diverses Oléacées le taux maximum est atteint en 24 heures de germination, elle diminue dans la suite.

BOGART et HUGHES [10] constatent l'accroissement général de l'acide ascorbique dans l'avoine en germination et étudient sa répartition détaillée.

GLICK (1937) [48] a étudié la plantule d'une variété d'orge du Danemark. Les graines ont été mises à germer selon la technique de LINDERSTRÖM-LANG et HOLTER [93] et au bout de cinq jours on peut isoler la feuille interne verte.

Le dosage de l'acide ascorbique dans les différentes parties de la plantule a été effectué en utilisant une technique micro-

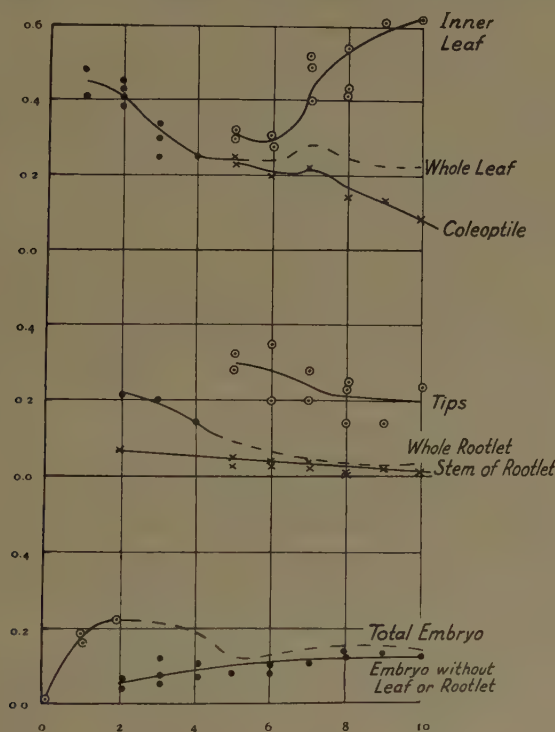


Fig. 47. Dosages des différentes parties de la plantule d'orge d'après GLICK. En abscisse les jours, en ordonnées la concentration en acide ascorbique en milligrammes par gramme.

chimique au dichlorophénol-indophénol. Le liquide d'extraction employé à la place de l'acide acétique était une solution d'acide métaphosphorique à deux pour cent dans du $\text{H}_2\text{SO}_4\text{N}$, qui aurait l'avantage d'éliminer l'action du glutathion, tandis que l'acide sulfurique augmentant l'acidité du milieu, empêche l'oxydase éventuellement présente d'oxyder l'acide ascorbique. On observe

qu'à partir de la mise en germination le taux de l'acide ascorbique dans l'embryon s'élève de 0 à 20 mg. pour 100 g.

La teneur de l'embryon total augmente jusqu'au deuxième jour, puis diminue, ce qui est dû apparemment à la proportion accrue du tronc de la racine et du coléoptile, tous les deux pauvres en vitamine C. La légère augmentation qui s'accuse après le cinquième jour vient probablement de l'augmentation subite de la concentration dans les feuilles.

Dans la feuille jaune-verte au début le taux est déjà élevé et rapidement il s'accroît considérablement: cette hausse subite correspond à la sortie de la feuille hors de la graine. Simultanément, on constate une diminution de la concentration dans le coléoptile qui est relativement peu pigmenté.

On voit par ailleurs que la pointe des racines qui a la même couleur jaune-verte que la feuille est également plus riche en acide ascorbique que le reste non pigmenté de la racine.

Les conclusions générales de ces dosages des divers éléments de l'embryon sont que l'acide ascorbique apparaît avec la germination de la graine, que les méristèmes semblent avoir une valeur appréciable et surtout que les tissus chlorophylliens s'avèrent très vite les plus riches de tous.

Plante développée.

La feuille est toujours un organe qui renferme beaucoup d'acide ascorbique, c'est généralement celui qui en renferme le plus. Les parenchymes verts, racines ou tiges, en contiennent toujours moins que les parenchymes foliaires.

Dans la racine du „Kohlrabi“ estimée bonne comme antiscorbutique par SCHEUNERT; on trouve selon TILLMANS et ses collaborateurs un taux de 75 cm. d'indophénol à 0,001 N pour 10 gr. On trouve dans la tige verte de rhubarbe estimée bonne par SCHEUNERT, un pouvoir réducteur de 4—5 cc. L'asperge considérée comme très bonne par SCHEUNERT a un pouvoir réducteur de 30—40 cc.

Toutes ces valeurs sont faibles par rapport à celles des tissus foliaires.

Les tiges et les racines du fait de leur constitution par des parenchymes banaux, des vaisseaux, des tissus subérifiés et ligneux n'en contiennent que de petites quantités. Peut-être sont-ils surtout organes de circulation ou de réserve.

Voici les résultats de quelques auteurs qui ont analysé ces divers organes dans une même plante. Antérieurement on a pu trouver une série de documents analogues (voir page 128 et suivantes).

Voici le résultat des dosages de STROHECKER [135] portant sur les différentes parties de l'églantier (*Rosa* sp.) exprimés en cem. de dichlorophénol-indophénol 0,001 N pour 10 gr. de substances:

églantier tiges jeunes	70
„ „ vieilles	35
„ feuilles	350
„ fruits jaunes mi-mûrs	190

LÉVY et FOX [91] ont donné pour *Medicago sativa* les valeurs suivantes:

feuilles seules	350
feuilles et pétioles tiges	308
bourgeons	340
petites tiges seules	180
tiges fibres	70

De plus ils ont vu qu'après la floraison le taux foliaire diminuait (255 au lieu de 350).

VIRTANEN [146] a également observé que c'est avant la floraison que le maximum de concentration est réalisé.

Les fleurs n'ont été que partiellement étudiées. Au contraire les fruits ont été très étudiés et comme on l'a vu, il semble que les fruits à caroténoïdes sont les plus riches. Les autres fruits au contraire seraient plus pauvres.

La signification de ces faits a été antérieurement discutée (voir page 138). Signalons encore que les fruits n'ont pas une constitution homogène. Ainsi dans le piment hongrois selon SZANYI les pédoncules et leurs vaisseaux les graines contiennent peu de vitamine C. La chair et le jus au contraire sont beaucoup plus riches.

Il faut enfin signaler la richesse relative du péricarpe par rapport aux tissus sous-jacents comme les recherches biologiques ou chimiques l'ont montré pour de nombreux fruits. A titre documentaire voici quelques chiffres empruntés à HARRIS et RAY [63].

	acide ascorbique en mg. par gramme		dose journalière minima en gramme par cobaye	
	chair	peau	chair	peau
Variétés des pommes:				
Bramley's Seedling	0,16	0,77	3—5	1
Newton Wonder	0,053	0,24	10	3
Blenheimer Orange	0,031	0,33	—	—
Edward VII	0,017	0,12	20	2 ?
Cox's Orange Pippin	0,016	0,09	20	—

CONSIDÉRATIONS PHYSIOLOGIQUES

La présence générale de l'acide ascorbique dans les cellules végétales révèle que ce corps joue un rôle général dans leur activité tout comme dans la cellule animale. Inversement son absence dans les éléments au repos, et c'est le cas de la plupart des graines, confirme cette interprétation.

Comme dans les tissus animaux on peut envisager un rôle dans la détermination et le maintien d'un certain potentiel d'oxydo-réduction (voir page 89): on peut également envisager son intervention dans diverses réactions élémentaires à titre de catalyseur (voir page 94).

Nous n'insisterons ici que sur deux points; ses rapports d'une part avec la photosynthèse et d'autre part avec la croissance.

Relations avec la fonction chlorophyllienne

L'existence d'une relation physiologique avec la fonction chlorophyllienne est révélée avant tout par les taux élevés que présentent les tissus chlorophylliens et d'une façon plus générale par les variations corrélatives que présentent la chlorophylle et l'acide ascorbique. BESSEY et KING [7] avaient déjà noté le taux élevé de l'a. ascorbique dans les tissus verts. De leurs observations ils avaient conclu qu'il devait avoir une relation physiologique entre l'a. ascorbique et la fonction chlorophyllienne. La comparaison (GIROUD, RATSIMAMANGA et LEBLOND [43—45] entre tissus avec chlorophylle et sans chlorophylle (feuille, racine, feuille pétale) partie verte et blanche de feuilles normales, parties vertes et blanches de feuilles panachées, feuilles vertes et étiolées etc. . . .) est très instructive. Effectuée par titration chimique

(méthode de Tillmans) cette étude comparative a été confirmée biologiquement par L. RANDOIN en collaboration avec ces mêmes auteurs [119—120]. Les tissus chlorophylliens sont toujours plus riches que les tissus sans chlorophylle (exception faite des tissus à caroténoïdes). De plus il faut noter que les tissus les plus riches sont ceux qui parmi les tissus verts sont les plus adaptés à la photosynthèse. Dans les tissus chlorophylliens de racine ou de tiges, les différences avec les tissus parenchymateux ne sont jamais très marquées comme c'est le cas par exemple entre tissu d'un limbe foliaire (vert) et d'un pétiole (blanc) ou d'une racine. Par ailleurs les plantes supérieures hétérotrophes (sans chlorophylle) paraissent également moins riches que des plantes comparables mais autotrophes (avec chlorophylle). Cette corrélation générale implique l'existence de connexion physiologique entre cette substance et la fonction chlorophyllienne.

IJDO [75] dans ses recherches sur la feuille de *Spinacia* constate aussi une relation entre la chlorophylle, les caroténoïdes et l'acide ascorbique. Il signale que les feuilles jaunes et fanées contiennent peu de vitamine C et peu de carotène. Par ailleurs il constate que cette vitamine augmente si la plante est irradiée par une lampe au néon. Aussi accepte-t-il l'hypothèse d'une relation directe entre la photosynthèse et la teneur en vitamine.

Parmi les faits instructifs de répartition, il faut encore signaler les constatations histochimiques discutées antérieurement et qui révéleraient la présence de l'acide ascorbique en plein centre de la fonction chlorophyllienne (Chloroplastes).

Le cas des plantes développées à l'obscurité est également particulièrement intéressant. Les plantes germées à l'obscurité ou naturellement la chlorophylle ne se développe pas normalement sont plus pauvres en effet en a. ascorbique que les plantes développées à la lumière. EGGLETON et HARRIS [30], HELLER [68], MATSUOKA [100].

L'étude détaillée de la germination telle que l'a effectuée GLICK [48] révèle aussi à cet égard des faits très importants (voir page 141). Cet auteur a pu voir que parmi les différentes parties de la plantule c'était dans la feuille jaune verte néoformée que la concentration de l'acide ascorbique s'accroissait le plus vite et atteignait des niveaux les plus élevés: aussi pense-t-il également qu'il doit y avoir des connexions entre ce corps oxydo-réducteur et la fonction chlorophyllienne.

A cet égard il serait bon que l'on précise exactement le moment de l'accroissement du taux par rapport à celui du développement de la chlorophylle et aussi du début de la photosynthèse. On sait en effet comme l'ont établi IRVING [77] et BRIGGS [14] qu'il y a un décalage entre l'apparition de l'une et le début de l'autre. Cette détermination permettrait de discuter des hypothèses que ces variations de taux permettent d'envisager et de décider définitivement si l'acide ascorbique est un produit de la photosynthèse ou plutôt s'il est un des éléments nécessaires à ce processus.

Parmi les relations qui peuvent unir l'acide ascorbique et la fonction chlorophyllienne, il faut envisager plusieurs hypothèses et d'abord celle de son origine au cours du processus même de la photosynthèse.

Il est bien évident que l'a. ascorbique n'a pas toujours son origine dans ce processus au moins directement. Toute une série de faits prouve qu'il peut se former en dehors d'une action directe de la photosynthèse. C'est le cas de la majorité des cellules animales qui le synthétisent pour leur propre compte: il n'y a guère d'exception que chez quelques espèces: cobaye, singe, homme. C'est aussi le cas des graines qui n'en possèdent généralement pas à l'état de réserve et où il n'apparaît qu'en fonction de leur germination.

La constitution même de l'a. ascorbique, les bases mêmes de sa synthèse chimique aux dépens du l-xylose (REICHSTEIN et HAWORTH), du glucose (MICHEEL) ou même du saccharose et du lactose (SAH) rendent des plus vraisemblables son origine indirecte aux dépens des oses. SAH [125] a même exposé en détail une théorie de sa formation dans le tissu végétal.

H. v. EULER et E. KLUSSMANN [33] ont à cet égard signalé un parallélisme entre la présence d'a. ascorbique d'une part et celle du mannose et galactose d'autre part.

Cette dérivation des oses a fait pour la cellule animale l'objet d'une série de tentatives expérimentales. Selon GUHA et GHOSH [51—52] l'addition de mannose à des préparations de tissus de mammifère détermine une production supplémentaire d'a. ascorbique. Il n'en est pas de même avec le glucose. Le phénomène est marqué avec les tissus du rat, du lapin, du pigeon, il serait minima chez le cobaye et le singe. Cette opposition paraît confirmer le bien-fondé de ces résultats car elle correspond aux capacités si différentes de synthèse normale de ces divers organismes: les premiers n'étant pas carençables car ils synthétisent

l'acide ascorbique; les seconds étant carençables puisqu'ils ne le synthétisent pas. Toutefois, LAPORTA et RINALDI [88], KLEINER et TAUBER [83] qui ont repris ces expériences ne les ont pas confirmées¹⁾.

Dans le domaine végétal, plusieurs observations du même ordre ont été effectuées. GUHA et GHOSH [51—52] auraient extrait du *Phaseolus mungo* un système fermentaire qui permettrait la transformation du mannose en a. ascorbique. RAY [123] sur la jeune plantule a cherché à montrer son origine possible aux dépens de divers oses ou même de diholosides. Pour cela il enlève aux germes de pois leurs cotylédons qui renferment du fait de leur masse une assez grande quantité d'a. ascorbique (plus de 5/6 du pouvoir réducteur total de la plantule). Dans ces conditions, le développement de la plantule ne tarde pas à s'arrêter tandis que le contenu en vitamine s'abaisse. Aux embryons ainsi opérés il fournit une série de sucres. Il observe alors que le développement peut reprendre et le germe se charge en acide ascorbique. Les meilleurs rendements en acide ascorbique sont donnés par le mannose. Il se formerait donc de la vitamine aux dépens de ces sucres.

Tous ces faits naturels ou expérimentaux montrent que spontanément l'acide ascorbique se forme en dehors de toute photosynthèse.

Cette production indépendante qui est bien établie n'empêche pas toutefois d'envisager une autre production dépendante de la photosynthèse.

VON EULER et KLUSMANN [33] ont avancé que dans les feuilles l'acide ascorbique est plutôt un produit intermédiaire ou secondaire de la synthèse des sucres, tandis que dans les fruits et les racines il ne constituerait qu'un produit de transformation des sucres.

Dans tous les cas, que nous venons de citer, il ne s'agit guère que de petites ou de moyennes concentrations de l'acide ascorbique; mais en est-il de même pour les cas où ces concentrations sont beaucoup plus élevées? Il se pourrait en effet que ces processus habituels puissent être activés par les éléments mêmes des réactions de la photosynthèse et qu'un accroissement de la pro-

¹⁾ Récemment H. MENTZER et Mlle. URBAIN utilisant la technique au bleu de méthylène et opérant soit sur le rat vivant soit sur des fragments d'intestin de souris, n'ont pas non plus observé de formation d'ac. ascorbique aux dépens de sucres. C. R. Soc. Biol. 128 (1938) 270.

duction de l'acide ascorbique fut ainsi liée au processus de la photosynthèse.

Nous avons eu l'occasion de chercher si l'on ne pourrait pas déceler une variation du taux de l'acide ascorbique en fonction du processus chlorophyllien. Nous avons, dans ce but, procédé à quelques dosages dans des conditions déterminées.

Ainsi en plein champ sur *Medicago sativa*, le taux varie au cours de la journée — (taux exprimé en milligrammes pour 100 grammes de tissu frais).

24 heures . . .	107	5 heures . . .	179
4 heures . . .	120	12 heures . . .	254

Au laboratoire nous avons mis à l'obscurité ou à la lumière une série de plantes et nous avons dosé ensuite leurs feuilles. Dans les feuilles du *Triticum repens*, nous avons trouvé un taux de 18 mg. à l'obscurité pour 26 mg. à la lumière. Il en a été de même chez *Viola tricolor* et aussi chez une fougère dont les deux moitiés de la même feuille ont été dosées comparativement après exposition à la lumière ou séjour à l'obscurité. L'acide ascorbique paraît donc augmenter au cours de la fonction chlorophyllienne. Par contre chez *Elodea*, *Myriophyllum* nous n'avons pas retrouvé ce phénomène.

Ces résultats ne sont donc pas absolument généraux et d'autre part ne reposent que sur des titrations au dichlorophénol-indophénol.

Il est difficile de tirer de l'ensemble de ces faits une conclusion: d'autres documents sont nécessaires.

Par ailleurs, certains faits ne semblent guère en faveur de la genèse de l'acide ascorbique au cours de la photosynthèse.

C'est en particulier le cas de l'apparition précoce du taux élevé (GLICK) dans les tissus chlorophylliens néoformés, probablement avant le déclenchement de la photosynthèse.

Il est plausible que l'élévation du taux ait sa cause non dans une production supplémentaire, mais seulement dans un phénomène nouveau de protection due à la présence de caroténoïdes ou d'autres substances.

L'ensemble des auteurs ont surtout envisagé une autre hypothèse. L'a. ascorbique jouerait un rôle actif dans le mécanisme même de la photosynthèse. Cette hypothèse est très vraisemblable et elle s'adapte parfaitement aux faits de répartition et aux faits d'évolution.

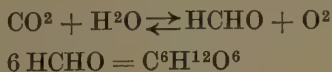
La démonstration de la présence de l'acide ascorbique dans le chloroplaste lui-même serait à cet égard de la plus haute importance. Elle sera peut-être établie indirectement si l'intervention de l'acide ascorbique dans la photosynthèse est prouvée physiologiquement, car elle ne peut guère se comprendre en dehors de cette localisation. Pour l'instant, nous avons vu que la seule preuve avancée est la réaction de MOLISCH et que la signification de cette dernière est discutée. Si l'on admet cette hypothèse, si l'on admet la structure granulaire du chloroplaste et si l'on suppose comme DISCHENDORFER que l'acide ascorbique se trouve localisé à l'interface séparant le disque chlorophyllien du stroma du chloroplaste, le rôle de l'acide ascorbique dans le processus même de la photosynthèse devient de plus en plus compréhensible. Les molécules de chlorophylle étant plongées dans le disque lipoïde par leur radical phytyle comme l'envisage BAAS BECKING, elles présenteraient leur partie magnésienne active du côté du stroma. L'acide ascorbique localisé à ce niveau serait en contact intime avec les groupements fonctionnels de la chlorophylle et pourrait intervenir à un stade ou à un autre des réactions.

Semblable hypothèse s'adapterait aussi bien au schéma aux multiples couches mono-moléculaires de chlorophylle de FREY-WISSLING. (voir page 114).

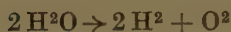
Rappelons toutefois que les faits observés par PEKAREK [115 bis] indiquent que la réaction de MOLISCH serait localisée non aux disques chlorophylliens mais bien au stroma.

Avant d'aller plus loin, il serait bon d'ailleurs que l'interprétation fondamentale même du mécanisme chlorophyllien soit bien établi, ce qui malheureusement, n'est pas encore le cas.

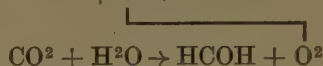
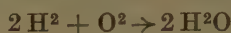
On peut admettre selon le schéma de MAQUENNE et soutenu par POLONOWSKY [116] que les molécules de chlorophylle réagissent en groupe et donnent directement naissances à des oses. On peut aussi admettre selon l'ancienne hypothèse de BAEYER qu'il se forme de la formaldéhyde qui secondairement se polymérise en sucres.



Cette réaction débiterait selon WURMSER [162] par une photolyse de l'eau.

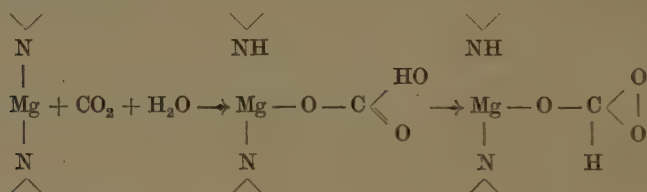


elle serait ensuite suivie d'une réaction couplée:

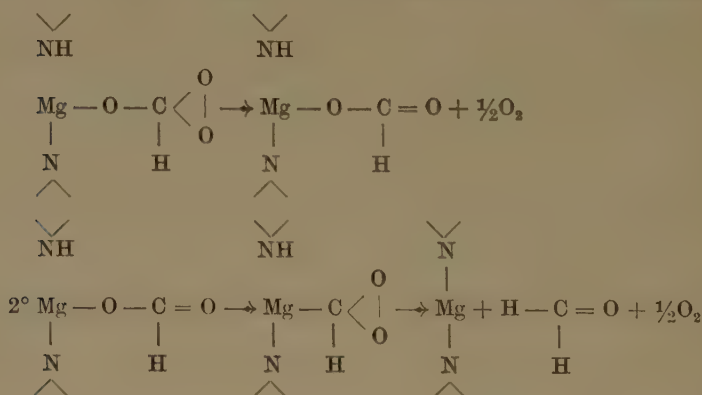


Si l'on admet les vues de WILLSTÄTTER et STOLL il existerait dans la photosynthèse deux processus successifs: un premier processus photochimique rapide indépendant de la température et un deuxième plus lent, indépendant de la lumière mais fonction de la température.

On aurait ainsi d'abord une fixation de CO^2 sur le Mg de la chlorophylle pour donner une première combinaison que l'action photochimique transforme en un dérivé peroxydique facilement décomposable.



Secondairement le peroxyde est décomposé avec départ d'un atome d'oxygène, en donnant un dérivé formique, qui perd de nouveau un atome d'oxygène pour se transformer en formaldéhyde.



Cette deuxième partie (réaction de BLACKMANN) serait due à un enzyme de même nature que la catalase, sensible à CNH et catalysable par le fer.

Il y a lieu de se demander si l'acide ascorbique ne pourrait intervenir comme catalysateur au cours de ces réactions.

Des hypothèses récentes semblent il est vrai limiter le rôle de la chlorophylle à une captation d'énergie et réserver le rôle d'hydrogénation à d'autres éléments. Quoiqu'il en soit d'ailleurs des observations récentes permettent d'autre part à un stade plus tardif d'envisager l'intervention de l'acide ascorbique dans la genèse des sucres: nous faisons ici allusion aux observations de WEST et NEY [153]¹). On sait que si l'on laisse de l'aldéhyde formique dans un milieu alcalin (chaux) au bout d'un certain temps et d'ailleurs généralement long on observe l'apparition d'oses.

Ces auteurs ont constaté in vitro que l'acide ascorbique a une forte action catalytique pour la formation de sucres reducteurs à partir de HCHO . La réaction catalysée par addition d'acide ascorbique a atteint son maximum d'intensité (au bout de 60') alors que le témoin n'a pas encore commencé à réagir. Par ailleurs dans les deux cas, les variations du pouvoir réducteur présentent un maximum passé lequel le pouvoir réducteur diminue. Ceci serait dû selon l'auteur au pouvoir réducteur plus élevé des petites molécules qui se forment au début de la réaction et qui plus tard se polymériseraient en donnant des molécules plus grosses mais moins réductrices.

Réactifs	temps en minutes	subst. réductrices exprimées en mg. de glucose pour 100 ccm.
aldéhyde formique + vit. C. + $\text{Ca}(\text{OH})_2$	0	24
"	30	220
"	60	391
"	90	312
"	120	269
"	180	199
aldéhyde formique + $\text{Ca}(\text{OH})_2$	0	0
"	60	0
"	120	11
"	180	154
"	240	94

¹) Ces données sont confirmées par KUZIN qui montre aussi le rôle catalytique de l'ac. ascorbique et un peu aussi celle de l'ac. isoascorbique. Biochimija 2 (1937) 127.

Comme le montre le tableau la différence est donc très manifeste. Par suite WEST et NEY pensent que l'acide ascorbique peut jouer un rôle comme catalysateur photosynthétique dans les plantes.

Si ces données sont confirmées il y a dans ce fait la preuve d'une intervention possible au cours d'un des stades importants de l'assimilation chlorophyllienne.

Acide ascorbique et croissance

Toute une série de faits montrent que l'acide ascorbique joue un rôle dans les processus de croissance.

VIRTANEN [145] a observé d'une façon générale, que plus une plante était riche en carotène et en vitamine C, plus sa croissance était grande. Nous avons eu aussi l'occasion de faire cette même observation [46]. D'autre part selon VIRTANEN tout facteur exerçant une influence défavorable sur la croissance tel que l'acidité excessive du sol, une concentration anormale de phosphate de potassium, de chlorure de sodium, abaisse leur teneur en carotène et en acide ascorbique.

L'expérimentation prouve bien le rôle de l'acide ascorbique. Voici les résultats de HAVAS qui à cet égard sont très intéressants. Cet auteur a expérimenté sur 2500 graines cultivées en boîte de PÉTRI (40—50 par boîte) sur papier filtre. Il ajoute aux uns de l'eau distillée et aux autres de l'eau distillée plus de l'acide ascorbique à des concentrations diverses. Aucune substance nutritive n'a été ajoutée et les expériences ont été interrompues lorsque les réserves des grains étaient épuisées (généralement au bout de 12 à 13 jours). La quantité moyenne d'acide ascorbique ajoutée pendant cette période était respectivement 4, 20, 95 et 150 mgr. pour les différentes concentrations employées: 1/10000; 5/10000, 2,5/1000 et 5/1000. La différence de comportement a été sensible avec les grains d'avoine mais elle a été surtout très nette avec les grains de blé.

Avec ce dernier l'auteur a obtenu des résultats suivants: avec les concentrations 1/10000 et 5/10000: pas de stimulation de la germination, mais une accélération de la croissance et une augmentation de 25 à 30 pour 100 de la longueur des plantules. A la fin de l'expérience, le poids des pousses des plantes traitées était de 25 à 30 pour 100 supérieur au poids correspondent des témoins; pour la racine, cette différence allait jusqu'à 50 pour

100. La concentration de 2,5/1000 exerce une légère inhibition sur la germination (24 à 45 pour 100) et une inhibition très marquée sur la croissance et le poids des plantules. La concentration de 5/1000 est pratiquement mortelle.

Par contre, on peut noter qu'en ce qui concerne les graines de plantes naturellement riches en acide ascorbique, telles que la tomate et le paprika, l'inhibition commence déjà à la concentration de 5/10000. L'action de l'acide ascorbique est donc très nette.

Miss. V. HAUSEN a aussi étudié l'influence de la vitamine C sur des plantes en culture stérilisée. Elle a ajouté de l'acide ascorbique cristallisé au milieu de culture et elle a trouvé que le poids sec des plantes traitées a été de 37 à 75 pour 100 supérieur au poids des plantes témoins. Pendant la floraison, ces différences étaient plus grandes. Les plantes traitées (surtout les jeunes plantes) avaient également une teneur en vitamine C plus élevée. Cette augmentation de la croissance est due spécialement à l'acide ascorbique et non simplement à l'addition de substances organiques au milieu minéral car une addition de glucose par exemple n'augmentait pas la croissance de ces plantes.

Pois „Torstai“ en solution de HILTNER stérilisée ($\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$);
pH initial 5,5

Durée de la croissance en jours	Stade de croissance	Poids sec de 2 plantes en gr.		Vitamine C par gr. de matière sèche (cc. de réactif)	
		Plantes traitées	Témoins	Plantes traitées	Témoins
20	Avant la floraison .	1,774	1,261	44	20
23	„ „ „	2,204	1,652	40	19
29	„ „ „	2,682	1,851	37	22
34	Commencement de la floraison	4,641	2,666	35	24
39	Pleine floraison . . .	5,692	3,835	36	30
44	Petites gousses	6,647	4,794	32	29
47	gousses compl. développées	7,119	4,343	25	26
50	gousses compl. développées	7,906	5,550	24	25
52	gousses compl. développées	8,122	5,820	23	24
55	gousses compl. développées	8,423	6,117	21	24

Signalons par contre que RAY [123] ne trouve pas de corrélation nécessaire entre le taux de l'embryon et son activité de croissance sur ses embryons sans cotylédons : les germes ainsi cultivés avec du mannose étaient très riches mais croissaient très peu, les plantules à arabinose et à xylose produisent peu ou pas d'acide ascorbique mais croissent très vite.

Par ailleurs Miss. VON HAUSEN [64] a fait les expériences suivantes : elle a en effet enlevé les cotylédons à de jeunes plantules

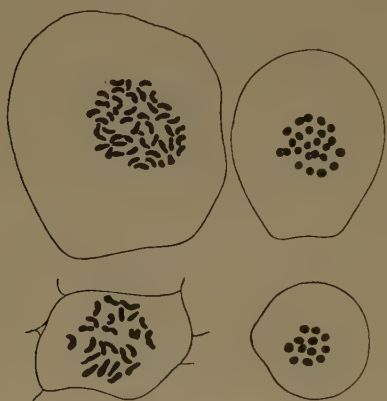


Fig. 48.

Cellules de tomate d'après WINKLER. A droite cellules mères du pollen, à gauche cellules somatiques : En haut les cellules tétraploïdes, en bas les cellules diploïdes.

de pois ce qui réduit leur teneur en vitamine à un niveau très bas et arrête presque complètement leur croissance. Elle a vu ensuite qu'un simple apport d'acide ascorbique suffit à rétablir un développement à peu près normal. Ces expériences paraissent très démonstratives du rôle de l'acide ascorbique dans ces processus.

Les faits généraux, l'activation observée par HAVAS et VON HAUSEN et surtout les expériences d'ablation de cotylédons de cette dernière indiquent que l'acide ascorbique est

un activateur de la croissance, qu'il se comporte bien selon l'expression de VIRTANEN [146], comme une phytohormone indispensable à la plante pour son développement.

Cette propriété doit être intimement liée à son rôle d'activateur dans diverses synthèses (glucides, protéides etc.) ou plus exactement dans divers processus fondamentaux (voir page 94).

On peut ici signaler certains faits qui traduisent bien probablement aussi le rôle de l'acide ascorbique dans la croissance.

Chacun sait que les organismes pourvus de génomes supplémentaires c'est à dire possédant non pas le nombre de chromosomes diploïdes normal, mais un nombre supérieur (triploïde, tétraploïde etc. ...) se caractérisent surtout par une différence de

taille de tous leurs constituants. Cellules et organes s'accroissent en effet avec le nombre de génomes: ce qui revient à dire jusqu'à un certain point que la croissance est de plus en plus grande. Or voici ce que l'on a pu observer sur ces organismes polyploïdes.

CRANE et ZILVA [22bis] ont mesuré le pouvoir antiscorbutique et par suite la concentration en vitamine C de différentes variétés de pommes les unes diploïdes et les autres triploïdes.

Activité antiscorbutique comparée
de pommes triploïdes et diploïdes

Dose journalière en gr.		3	5	10	20
Bramleys Seedling	V. triploïde	++++	++++	++++	++++
Belle de Boskop	"	++++	++++	++++	++++
Gennet Moyle	"	+++	++++	++++	non dosé
Reinette du Canada	"	++	++	++++	non dosé
Blenheim Orange	"	+	+++	++++	++++
Warners King	"	+	+++	++++	++++
Ribston East M	"	+	++	++++	++++
Ribston Canadian	"	0 à +	+	+	++++
Baldwin 1930	"	+	+	+++	++++
Baldwin 1931	"	0	+	+++	++++
Gravenstein 1930	"	0	0	0	+
Gravenstein 1931	"	0	0	0	± à +
Lanes Prince Albert	V. diploïde	+	+++	++++	++++
Newton Wonder	"	+	++	++++	non dosé
King Edward VII	"	0	+	+++	++++
Worcester Pearmain	"	0	0	+	++++

Ils concluent qu'en général, les formes triploïdes paraissent plus riches que les diploïdes, mais ils font remarquer qu'on ne peut tirer de conclusion précises sur l'influence de génomes supplémentaires qu'en comparant des diploïdes et tétraploïdes par ailleurs identiques c'est-à-dire dérivées de la même souche.

SANZOME et ZILVA [126] ont effectué ensemble d'intéressantes observations complémentaires à cet égard. On sait que la tomate normale est diploïde (24 chromosomes), mais si l'on décapite cette plante, environ 7% des rejetons adventifs qui poussent à la suite de ce traitement sont tétraploïdes avec 48 chromosomes.

Les auteurs ont cultivé d'après les méthodes de WINKLER et de CRANE et JÖRGENSEN, quatre races différentes de tomates di-

ploïdes et tétraploïdes dont ils ont dosé le jus (obtenu par broyage, passage sur mousseline et centrifugation) par le test prophylactique sur cobaye et par le dichlorophénol. Ils ont vu que toutes les formes tétraploïdes étaient environ deux fois plus riches en vitamine C que les diploïdes.

Exprimée en cem. N/1000 indophénol par cem. titration de jus
de diverses races de tomates

	tétraploïde	diploïde
dRop	4,1	2,0
DROP	4,3	2,3
drop	4,0	2,6
DrOP	4,1	2,2

Ces faits confirment les conclusions antérieures de CRANE et ZILVA sur les relations entre la constitution chromosomienne et la vitamine C dans les pommes. Toutefois, il faut dire que KEY (1933) [80] n'aurait pas trouvé de différences avec le test dentaire entre la teneur des tomates diploïdes et tétraploïdes.

Cette surcharge chromosomienne (triploïdie ou tétraploïdie) qui s'accompagne d'une augmentation d'acide ascorbique est un fait qui mérite d'attirer l'attention en lui-même, mais aussi à cause de sa signification générale. Nous saisissons là un intermédiaire chimique (mesurable) entre une constitution chromosomienne et d'autres caractères physiologiques et morphologiques ici spécialement un phénomène de croissance.

Les variations de taux que l'on observe en fonction de l'âge chez beaucoup d'animaux et surtout chez l'homme traduisent peut être aussi et avant tout l'évolution des capacités de synthèse et de croissance de ces organismes (voir page 84).

Rappelons les observations de BESSEY et KING chez le rat et le lapin qui révèlent dans divers organes des chiffres plus bas chez l'adulte que chez le jeune; celles de VON EULER et KLUSMANN, de PLAUT et BÜLOW, de MELKA sur le système nerveux où le taux baisse avec l'âge.

Chez l'homme cette évolution est encore plus nette soit qu'on l'examine, soit depuis la naissance (JAWORSKY, ALMADEN et KING), soit que l'on remonte aux stades embryonnaires (GIROUD et ses collaborateurs).

Bien que l'interprétation de ces derniers faits soit complexe (phénomènes de fixation ou de production d'acide ascorbique) il paraît vraisemblable qu'ils correspondent comme les premiers à l'évolution des capacités de synthèse ou de croissance de l'organisme.

Il faut peut-être enfin rapprocher de ces données le rôle indiscutablement accélérateur de l'acide ascorbique sur le développement des tumeurs. ARLOING, MOREL et JOSSE RAND (1935) [2] ont signalé l'action excitante de ce corps pur (à l'inverse de certaines de ses combinaisons) sur des tumeurs greffées chez le lapin (énormes métastases hépatiques). FODOR et KUNOS (1935) [34] ont observé que son introduction digestive ou sous-cutanée détermine une accélération considérable des carcinomes d'Ehrlich chez la souris. C'est aussi ce qu'ont pu constater LUDWIG et WACHTEL (1936) [96].

De tout cela il résulte d'une part que l'acide ascorbique se comporte nettement comme un excitant des processus de croissance et d'autre part que bien des phénomènes peuvent être rattachés à cette propriété qui elle-même repose probablement sur son rôle de catalyseur dans diverses réactions fondamentales.

BIBLIOGRAPHIE

Généralités et méthodes

1. AMMON, R., et K. HINSBERG. Bemerkungen zu den Vitamin C-Bestimmungsverfahren im Urin. *Klin. Wschr.* 15 (1936), 85—88.
2. BERSIN, KOESTER et JUSATZ. Biochemische Beziehungen zwischen Ascorbinsäure und Glutathion. *Zschr. f. physiol. Chem.* 235 (1935), 120.
3. BESSEY et KING. The distribution of vitamin C in plant and animal tissues and its determination. *J. biol. Chem.* 103 (1933), 687.
- 3 bis. BESSEY, MENTEN et KING. Pathologic changes in the organs of scorbutic guinea pig. *Proced. Soc. Exp. Biol. a. Med.* 31 (1934) 455.
4. BEZSSONOFF, N., et A. DELIRE. Sur les réactions colorées de la Vitamine C. *C. R. Ac. Sc.* 196 (1933), 2036.
- 4 bis. BEZSSONOFF, N.. Une condition complémentaire de l'épreuve au réactif de la vitamine C. *Bull. Soc. Chim. biol.* 6 (1924), 220.
5. BEZSSONOFF, N., A. DELIRE et VAN WIEN. L'activité réductrice de la vitamine C et d'autres réducteurs biologiques exprimée en fonction de leur concentration. *Bull. Soc. Chim. Biol.* 16 (1934), 1133.
- 5 bis. BEZSSONOFF, N., et E. STOERR. La technique du dosage de la vitamine C par le procédé Bezssonoff. *Zeitschr. f. Vitaminforschung* 5 (1936), 193.
6. BEZSSONOFF, N., et VAN WIEN. Sur l'identification et le dosage de la vitamine C dans les milieux biologiques. *Bull. Soc. Chim. Biol.* 16 (1934), 1160.
7. BOMSKOV, CH. *Methodik der Vitaminforschung.* G. Thieme Verlag, Leipzig (1935).
8. BOURNE, G. The staining of vitamin C in the adrenal gland. *The Austral. Journ. of Experim. Biology and Med. Science* 11 (1933), 261.
10. BOURNE, G. The vitamin C technique as a contribution to cytology. *Anat. Record.* 66 (1936), 369.
11. CARO et GIANI. Über die Fähigkeit von Gewebe Ascorbinsäure zu fixieren. *Ztschr. f. physiol. Chem.* 223 (1934), 229.
12. CARO et GIANI. Oxydations-Schutz der Ascorbinsäure durch tierisches Gewebe. *Ztschr. f. physiol. Chem.* 228 (1935), 13.
13. CHEVALLIER, A., et Y. CHORON. Sur la teneur du foie en vitamine A et ses variations. *C. R. Soc. biol.* 125 (1935), 1223.

14. CHEVALLIER, A., et Y. CHORON. Sur une méthode spectrographique de dosage de l'acide ascorbique dans les tissus. *Bull. Soc. Chim. Biol.* 19 (1937), 511.
15. EEKELEN, M. VAN. On the amount of ascorbic acid in blood and urine. The daily human requirements for ascorbic acid. *Biochem. J.* 30 (1936), 2291—98.
16. EMMERIE, A. The reducing properties of ascorbic acid; a colour reaction with selenous acid and AuCl_3 and the precipitation of ascorbic acid with lead acetate. *Acta brev. Neerland* 4 (1934), 141.
17. EULER, H. v., et BURSTRÖM. Ascorbinsäurebestimmung im Harn durch Titration. *Biochem. Ztschr.* 283 (1935), 153—157.
18. EULER, H. v. Les régulations hormonales. *Hormones et vitamines. Rapports journées med. internat. Paris* (1937).
19. ETTORI, J., et R. GRANGAUD. Sur l'oxydase de la vitamine C. *C. R. Soc. Biol.* 124 (1937), 557.
20. FUJITA, A., D. IWATAKE et T. MIYATA. Über die kolorimetrische Bestimmung von Vitamin C. *Biochem. Z.* 277 (1935), 296—304.
21. GABBE, E. Bestimmung von Vitamin C im Blutserum. *Klin. Wschr.* 13 (1934), 1389.
22. GABBE, E. Über Adsorption von Ascorbinsäure im Blute. *Klin. Wschr.* 16 (1937), 483.
23. GALVAO et CARDOSO. Vitamin C et surrénale. *C. R. Soc. Biol.* 115 (1934), 250.
24. GIROUD, A., et C. P. LEBLOND. Localisation histochemique de la vitamine C dans le cortex surrénale. *C. R. Soc. Biol.* 115 (1934), 705.
25. GIROUD, A., et C. P. LEBLOND. Détection histochemique de l'acide ascorbique ou vitamine C. *Bull. Hist. appliquée* 11 (1934), 365.
26. GIROUD, A., R. RATSIMAMANGA, A. BARRATTE et F. SYLVA. Réactions des animaux carencables à des doses croissantes d'acide ascorbique. *C. R. Soc. Biol.* 120 (1935), 701.
27. GIROUD, A., C. P. LEBLOND, R. RATSIMAMANGA et M. RABINOWICZ. L'acide ascorbique ou vitamine C dans la cellule et sa détection. *Protoplasma* 25 (1936), 115.
28. GIROUD, A., R. RATSIMAMANGA, M. RABINOWICZ et E. HARTMANN. L'acide ascorbique au cours de la cadavérisation. *C. R. Soc. Biol.* 121 (1936), 739.
29. GLICK, D. The chemical determination of minute quantities of vitamin C. *The Journ. of biological Chem.* vol. 109 (1935), No. 1, 433.
30. GLICK, D., et G. R. BISKIND. The histochemistry of the adrenal gland. *The Journ. of biol. Chem.* 110 (1935), 1.
31. GLICK, D. Methods and applications of enzyme studies in histological chemistry by the Linderstrøm-Lang and Holter technic. *J. of Chem. Education* Vol. 12 (1935), No. 6, 253.

32. GOUGH et ZILVA. The silver nitrate staining reaction for ascorbic acid in the adrenal, pituitary acid ovary of various species of animals. *Biochem. J.* 27 (1933), 1279.
33. GUHA, B. C., et J. C. PAL. Combined ascorbic acid in food-stuffs. *Nature* (London) 137 (1936), 946.
34. HARDE. Acide ascorbique et intoxication. *C. R. Acad. Soc.* 197 (1934), 619.
35. HARRIS et RAY. Vitamin C and the suprarenal cortex. I. Antiscorbutic activity of ox suprarenal. *Biochem. J.* 26 (1932), 2067.
- 35 bis. HARRIS, MILLS et INNES. The chemical identification of vitamin C. Confirmation of activity of a preparation of hexuronic acid. *Lancet* 223 (1932), 235.
36. HARRIS et RAY. Vitamin C and the suprarenal cortex. II. Loss of potency of guinea pig suprarenal in scurvy with notes on a method for determining antiscorbutic activity of hexuronic acid by chemical means. *Biochem. J.* 27 (1933) 303.
37. HAWORTH. The constitution of ascorbic acid. *J. of Soc. Chem. Ind.* L. II. (1933), 482.
38. HAWORTH et HIRST. The primary product of the synthesis of ascorbic acid and its analogues. *Helv. Chim. acta* 17 (1934), 520.
39. HENRY, E. W. MC., and M. GRAHAM. Observations on the estimation of acid ascorbic by titration. *The Biochem. Journ.* 29 (1935), 2013.
40. HIRST, E. L. The structure of ascorbic acid. *J. Soc. Chem. Indust.* 52 (1933), 221.
41. HOEJER, A., and G. WESTIN. Skorbut der Kiefer und Zähne beim Meer-schweinchen. Eine histopathologische Studie. *Vierteljahrsschrift f. Zahnheilkunde* 40 (1924), 247—261.
42. HOLST, A., et T. FROELICH. Experimental studies relating to slip beriberi and scurvy. *Journ. of Hyg.* VII (1907), 634.
43. HOLST, A., u. T. FROELICH. Über experimentellen Skorbut. *Ztschr. Hyg. Infekt.* 72 (1912), 1—120.
44. HUSZAK, St. Zur Chemie des Nebennierenmarkes. *Ztschr. f. physiol. Chem.* 222 (1933), 229.
45. KALNINS, V. Über die Bestimmung des Gehaltes an Vitamin C im menschlichen Gehirn mittels der Zahntestmethode. *Klin. Wschr.* 16 (1937), 93.
46. KELLIE, A. E., et S. S. ZILVA. Alleged presence of dehydroascorbic acid in blood. *Biochem. J.* 30 (1936), 361—68.
47. KEY et ELPHICK. A quantitative method for the determination of vitamin C. *Biochem. J.* 25 (1931), 888.
48. KOTAKE et NISHIGAKI. Über Vitamosazone. *Hoppe Seylers Ztschr.* 219 (1933), 224.
49. LEBLOND, C. P. La vitamine C dans l'organisme. Thèse Paris (1934).
50. LEVY, L. F. State of ascorbic acid in plant tissues. *Nature* (London) 138 (1936), 933.

51. LINDERSTRØM-LANG, K., and H. HOLTER. The estimation of small cleavages caused by enzymes. *Compt. rend. trav. laboratoire Carlsberg* 19 (1931), No. 4; *Zeitschr. physiol. Chem.* 201 (1931), 9.
52. LUND, SPUR et FRIDERICA. The biological and tetric determination of vitamin C. *Biochem. J.* 28 (1934), 1825.
53. LOUREIRO, A. DE. Ultraviolet absorption spectra of tissue extracts and the spectrographique determination of ascorbic acid. *Bull. Soc. chim. biol.* 18 (1936), 757—68.
54. MALMBERG et EULER. C-Vitamin im Gehirn nach verschiedener C-Vitaminzufuhr. *Hoppe Seylers Zeitschr.* 235 (1935), 97—106.
55. MANCEAU, P., A. A. POLICARD et M. FERRAND. Remarques sur le dosage chimique de l'acide ascorbique. *Ex. Bull. de la Soc. Chim. biol.* 18 (1936), 1369.
56. MANCEAU, P., A. A. POLICARD et M. FERRAND. Sur le dosage chimique de l'acide ascorbique. *Bull. Soc. Chim. biol.* 18 (1936), 1623.
57. MARTINI, E., et A. BONSIGNORE. Eine neue Methode der Ascorbinsäurebestimmung. *Biochem. Z.* 273 (1934), 170—177.
58. MAWSON, C. The influence of animal tissues on the oxidation of acid ascorbic. *Biochem. J.* 29 (1935), 569—79.
59. MELKA, J. Über den Ascorbinsäuregehalt in verschiedenen Teilen des Zentralnervensystems. *Arch. f. Ges. Physiol.* 237 (1936), 216—21.
60. MENDIVE, R., et DEULOFEU. Ascorbinsäure in inneren Drüsen. Isolierung aus Hypophyse. *Hoppe Seylers Z.* 236 (1935), 208.
61. MENTZER, C., et A. VIALARD-GOUDOU. Contribution à l'étude de l'acide ascorbique réduit. Remarques sur le dosage par la méthode au bleu de méthylène. *Bull. Soc. Chim.* 19 (1937), 707.
62. MEUNIER, P. L'a. ascorbique. Nouveau procédé de dosage dans les tissus. *Ann. des Fermentations* 3 (1937) 156.
63. MEUNIER, P. Sur le dosage de l'acide ascorbique des tissus par l'indophénol: un procédé de colorimétrie cinétique. *Bull. Soc. Chim. Biol.* 19 (1937), 877.
64. MICHEEL. Zur Kenntnis des Vitamin C. *Naturwissenschaften* 21 (1933), 63.
65. MICHEEL et KRAFT. Die Konstitution des Vitamin C. *Hoppe Seylers Ztschr. f. physiol. Chem.* 218 (1933), 280.
66. MICHEEL, F., K. KRAFT et W. LOHMANN. Eine Synthese des Vitamins C. *Hoppe Seylers Zeitschr.* 225 (1933), 13—17.
67. MOTTERN, NELSON et WALKER. *J. Ass. Agr. chem.* 15 (1932), 614.
68. MOURIQUAND et COEUR. Acide ascorbique des surrénales et cadavérisations. *C. R. Soc. Biol.* 119 (1935), 615/16.
69. MOURIQUAND, G., et P. VIENNOIS. Action de la cadavérisation sur la teneur des surrénales en acide ascorbique. *C. R. Soc. Biol.* 125 (1937), 289.
70. NEUWEILER, W. Über die Vitamin-C-Bestimmungsmethode von Martini und Bonsignore. *Klin. Wschr.* 15 (1936), 854—56.

71. NEUWEILER, W. Über die Fermentmethode zur Vitamin-C-Bestimmung und das Vorkommen von Ascorbinsäure-Oxydase in pflanzlichen Produkten. *Klin. Wschr.* 15 (1936), 856—57.
72. PERROT, E., L. MILLAT et R. COLAS. Sur la présence de vitamine C et de plus de ses dérivés dans une écorce de l'amérique de Sud. le chuchuh-nasha. *Bull. Acad. Med.* 117 (1937), 468.
73. POLICARD, A. A., et M. FERRAND. Bemerkungen zur Bestimmung des Vitamins C. *Klin. Wschr.* 16 (1937), 308.
74. PLAUT et BUELOW. Die Abnahme des C-Vitamins im *Liquor cerebrospinalis* als Merkmal gesteigerter Stoffwechselvorgänge bei Malaria und bei Thyroidinzufuhr. *Klin. Wschr.* 14 (1935), 1318.
75. RANDOIN, L., et F. LOPEZ-LOMBA. Production de scorbut chez le cobaye et le lapin jeune au moyen d'un nouveau régime biochimiquement équilibré et seulement dépourvu de facteur C. *C. R. Acad. Sc.* CLXXVI. (1923), 1003.
76. RANDOIN, L., A. GIROUD et C. P. LEBLOND. Relations entre la teneur en vitamine C de divers tissus végétaux et la présence ou l'absence de chlorophylle. *C. R. Soc. Biol.* 120 (1935), 297.
77. REICHSTEIN, GRUERNER et OPENAUER. Synthesis of α -acide-L-ascorbic acid (Vitamine C). *Helv. Chim. Acta.* 16 (1933), 561; *Nature* 132 (1933), 280.
78. REISS, P., et J. ROCHE. Recherches physico-chimique sur le corps vitré de l'œil. *Arch. de Physique biol.* IX. (1931), 77 No. 2.
79. ROE, J. H. Determination of ascorbic acid as furfural and a comparison of results obtained by this method and by indophenol titration. *J. biol. Chem.* 116 (1936), 609—619.
80. SIEHRS, A. E., et O. MILLER. Disappearance of vitamin C from the adrenals of scorbutic guinea pig. *Journ. Nutrit.* 8 (1934), 221—227.
81. SIVADJIAN, J. La chimie des vitamines et des Hormones. Les Monographies de chimie pure et appliquées. (1938.)
82. SVIRBELY, J. L., et A. SZENT-GYÖRGYI. The chemical nature of vitamin C. *Nature London* 129 (1932), 576 et 690; *Biochem. J.* 26 (1932), 865.
83. SVIRBELY, J. L. The ascorbic acid content of the adrenals and livers of differens animals. *Biochem. J.* 27 (1933), 960.
84. SZENT-GYÖRGYI, A. Observations of the function of peroxydase systems and the chemistry of the adrenal cortex. Description of a new carbohydrate derivative. *Biochem. J.* 22 (1928), 1387.
85. SZENT-GYÖRGYI, A. Vitamine C, adrénaline et surrénale. *Dtsche Med. Wschr.* 58 (1932), 852—54.
86. TAUBER, KLEINER et MISHKIND. Ascorbic acid (vitamin C) oxydase. *J. biol. Chem.* 110 (1935), 211.
87. TILLMANS et HIRSCH. *Ztschr. f. Unters. der Lebensmitt.* 63 (1932), 1.

88. TILLMANS, J., P. HIRSCH et J. JACKISCH. Das Reduktionsvermögen pflanzlicher Lebensmittel und seine Beziehung zum Vitamin C. Der Gehalt der verschiedenen Obst- und Gemüsearten am reduzierenden Stoff. Z. Unters. Lebensm. 63 (1932), 241.
 89. TONUTTI, E., et E. PLATE. Über das Vitamin C in der menschlichen Placenta. Archiv f. Gynäkologie 164 (1937), 385.
 90. WAUGH et KING. Isolation and identification of vitamin C. Science 75 (1932), 357; J. biol. Chem. 97 (1932), 325.
 91. WESTERGAARD, B. Vitamin C in the adrenal glands and the hypophysis cerebri of the ox. Biochem. J. 28 (1934), 1212.
 92. WURMSER et LOUREIRO. Le potentiel d'oxydo-réduction de l'acide ascorbique. C. R. Soc. biol. 113 (1933), 543.
-

II

BIBLIOGRAPHIE

Concernant les cellules et les tissus animaux

1. ALTENBURGER, E. 1936. Über die Beziehungen der Ascorbinsäure zum Glykogenhaushalt der Leber. *Klin. Wschr.* 15, 1129—31.
- 1 bis. AMMON, R. 1936. Die chemische Isolierung des C-Vitamins aus der menschlichen Placenta. *Biochem. Z.* 288, 93—115.
2. AUBEL et LEVY. 1929. Le potentiel d'oxydo-réduction dans les chenilles de *Galleria*. *C. R. Soc. Biol.* 101, 756.
3. AUBEL et WURMSER. 1929. Le potentiel d'oxydo-réduction des cellules de mammifères. *C. R. Soc. Biol.* 101, 880.
4. BELLOWS, J. 1936. Biochemistry of the lens. C vitamin acid content of the blood and urine of subjects with senile cataract. *Arch. of Ophtalm.* 15, 78—83.
- 4 bis. BENTSATH, A., ST. RUSZNYÁK et A. SZENT-GYÖRGYI. 1937. Vitamin P. *Nature (Lond.)* 139, 326.
5. BERSIN, KOSTER et JUSATZ. 1935. Biochemische Beziehungen zwischen Ascorbinsäure und Glutathion. *Ztschr. f. physiol. Chem.* 225, 120.
6. BESSEY, O. A. et C. G. KING. 1933. The distribution of vitamin C in plant and animal tissues and its determination. *J. biol. Chem.* 103, 687.
7. BEZSSONOFF, N. 1924. Une condition complémentaire de l'épreuve au réactif de la vitamine C. *Bull. Soc. Chim. biol.* 6, 220.
8. BEZSSONOFF, N., STOERR et PERRIER. 1935. La teneur en vitamine C du sang et des urines après injections massives. *Soc. Biol.* 118, 1090.
9. BEZSSONOFF, N. et E. STOERR. 1936. La technique du dosage de la vitamine C par le procédé BEZSSONOFF. *Z. Vitaminschg.* 5, 193—221.
10. BEZSSONOFF, N., J. NORDMANN et P. REISS. 1936. Action de l'avitaminose C sur le potentiel de platine de l'humeur aqueuse et du cristallin. Influence du régime de base. *C. R. Biol.* 123, 1196.
11. BIERICH, R. et A. ROSENBOHM. 1935. Über den Gehalt raschwachsender jugendlicher Gewebe an Ascorbinsäure und Glutathion. *Hoppe Seylers Ztschr.* 231, 47—50.
12. BIETTI, G. et A. CARTENI. 1934. Ricerche sulle proprietà antiscorbutiche dell'umore acqueo et del cristallino. *Boll. Soc. ital. biol. sper.* 9, 1245—1247.
13. BIETTI, G. 1935. La vitamina C (acido ascorbico) nei liquidi e tessuti oculari: suvi rapporti colla biologia del cristallino. *Boll. Ocul.* 14, 3—33.

14. BINET, L. et G. WELLER. 1936. Glutathion total des tissus. *Bull. Soc. Chim. biol.* 18, 358.
15. BIRCH et DANN. 1933. Estimation and distribution of ascorbic acid and glutathion in animal tissues. *Nature* 131, 469.
16. BISKIND, G. R. et D. GLICK. 1936. Vitamin C in an oestrin producing ovarian tumour. *Science (N.-Y.)* II, 186.
17. BISKIND, G. R. et D. GLICK. 1936. Histochemistry. V. Vitamin C concentration of the corpus luteum with reference to the knowledge of the oestrus cycle and pregnancy. *J. Biol. Chem.* 113, 27—33.
18. BISKIND, G. R. et D. GLICK. 1937. Studies in histochemistry. *Arch. of Pathology* 23, 363—371.
19. BONSIGNORE, A. et C. ARDY. 1936. Über die Natur der reduzierenden Substanz im Gehirn. *Klin. Wschr.* 15, 742—43.
20. BOURNE, G. 1933. Vitamin C in the adrenal gland. *Nature* 131, 874.
- 20 bis. BOURNE, G. 1935. The distribution of vitamin C in the organs of the Fox. *Aust. J. exper. Biol. med. Sci.* 13, 113.
21. BOURNE, G. 1935. Mitochondria, Golgi apparatus and vitamins. *Austral. J. of exp. biol. a med. Sc.* XIII, 239.
- 21 bis. BOURNE, G. 1935. Synthesis of vitamin C by luteal tissue. *Nature (Lond.)* I, 148—49.
22. BOURNE, G. 1936. The vitamin C technique as a contribution to cytology. *Anat. Record* 66, 369.
23. BOYLAND, E. 1936. The selective absorption of ascorbic acid by guinea-pig tumour tissue. *Biochem. J.* 30, 1221—23.
24. CAFFIER, P. et R. AMMON. 1936. Vergleichende C-Vitaminbestimmungen in verschiedenen Placenten. *Zbl. Gynäk.* 60, 1—7.
25. CARDOSO, D. M. 1935. Toxine diphtérique et vitamine C. *C. R. Soc. Biol.* 119, 749.
26. CARO, DE et GIANI. 1934. Über die Fähigkeit von Gewebe, Ascorbinsäure zu fixieren. *Ztschr. f. physiol. Chem.* 223, 229.
27. CARO, DE et GIANI. 1935. Oxydations-Schutz der Ascorbinsäure durch tierisches Gewebe. *Ztschr. f. physiol. Chem.* 228, 13.
28. CHEVALLIER, A. et Y. CHORON. 1935. Sur la teneur du foie en vitamine A et ses variations. *C. R. Soc. Biol.* 120, 1223.
29. CHEVALLIER, A. et Y. CHORON. 1937. Sur une méthode spectrophotométrique de dosage de l'acide ascorbique dans le sang. *C. R. Soc. Biol.* 124, 745.
30. CHEVALLIER, A. et Y. CHORON. 1937. Sur la teneur du cerveau et du foie en vitamine C chez le cobaye. *C. R. Soc. Biol.* 125, 65.
31. CHICK, H. et E. DALYELL. 1919. Skorbutgefahr in Wien. *Wien. Klin. Wschr.* 32, 1219/20.
32. CLAYTON, M. M. et J. D. KEITH. 1936. Teneur en vitamine C des amygdales humaines. *Sciences (New York)* 84, 377—78.

33. COLLAZO, J. A. et A. SANTOS RUIZ. 1935. Existencia de la vitamina C en los animales refractarios al escorbuto. *La medicina Ibera* 29, 325.
34. DEMOLE, V., P. CAHEN et H. PFALTZ. 1935. Beitrag zur Histochemie der Zahngewebe. Nachweis des Vitamins C im Zahngewebe. *Klin. Wschr.* 14, 966—67.
35. DUTCHER, R. A., E. M. PIERSON et A. BIESTER. 1920. Vitamin studies. The antiscorbutic properties of raw beef. *Journ. Biol. Chem.* 42, 301—10.
36. EEKELEN, M. v., A. EMMERIE, JOSEPHY et WOLFF. 1933. Vitamin C in blood and urine. *Nature* 132, 315.
37. EEKELEN, M. v. 1936. On the amount of ascorbic acid in blood and urine. The daily human requirements for ascorbic acid. *Biochem. J.* 30, 2291—98.
38. EHRLICH. 1885. *Das Sauerstoffbedürfnis des Organismus*. Berlin.
39. EMMERIE, A. 1934. The reducing properties of ascorbic acid; a colour reaction with selenous acid and AuCl_3 and the precipitation of ascorbic acid with lead acetate. *Acta brev. Neerland* 4, 141.
40. EULER, H. v. et E. KLUSMANN. 1933. Studien über C-Vitamin. *Svensk. Kem. Tidskr.* 44, 290—310.
41. EULER, H. v. et E. KLUSMANN. 1933. Physiologische Versuche über Vitamin C und Reduktion. *Hoppe Seylers Ztschr.* 217, 167.
42. EULER, H. v. 1933. Beobachtungen über die Vitamine A und C. *Ark. Kemi Mineral och Geol.* XI, No. 18.
43. EULER, KARRER et ZEHENDER. 1934. Das Verhalten von Vitamin C (Ascorbinsäure) und anderer Reduktone gegen katalytische und andere Enzyme. *Helv. chim. acta.* 17, 157.
44. EULER, H. v. et M. MALMBERG. 1935. Neue Versuche über Ascorbinsäure (C-Vitamin) in tierischen Augenlinsen. *Arch. Augenheilk.* 109, 225—34.
45. EULER, H. v. 1937. Les régulations hormonales. *Hormones et Vitamines. Rapports journées med. internat. Paris.*
46. EULER, H. v. 1938. Bedeutung der Wirkstoffe (Ergone) Enzyme und Hilfsstoffe im Zellenleben. *Ergebn. d. Vitamin- und Hormonforschung.* I, 159.
47. FARMER, B. M., J. CHRISTER and A. F. ABT. 1935. Ascorbic acid content of blood. *Proc. Soc. exper. Biol. a. Med.* 32, 1625—29.
48. FAURE-FREMIET. 1910. Sur la microchimie des corps gras. Applications à l'étude des mitochondries. *Arch. d'Anat. micr.* 12.
49. FINDLAY, G. M. 1921. The blood and blood vessels in guinea-pig scurvy. *Journ. Path. Bact.* 24, 446—453.
50. FIRKET, J. et COMHAIRE. 1929. Recherches expérimentales sur la teneur en glutathion des pois au début de la germination. *Bull. Ac. Roy Med. Belg.* 93.

51. FISH and HARRIS. 1934. The effects of vitamin C deficiency on tooth structure in guinea-pigs. Phil. Trans. Roy Soc. London 223 B, 489.
52. GABBE, E. 1934. Détermination de la vitamine C dans le serum. Klin. Wschr. 13, 1389.
53. GABBE, E. 1937. Über Adsorption von Ascorbinsäure im Blute. Klin. Wschr. 16, 483.
54. GALVAO et CARDOSO. 1934. Vitamine C et surrénales. C. R. Soc. Biol. 115, 250.
55. GIEDOSZ, B. et W. RYCHLIK. 1936. Image histologique des ovaires dans le scorbut expérimental; influence de la folliculine. C. R. Soc. Biol. 123, 1226.
56. GIROUD, A. 1925. Le chondriome; recherches sur sa constitution chimique et physique. Thèse médecine Paris 1925 et Arch. anat. micr.
57. GIROUD, A. 1929. Recherches sur la nature chimique du chondriome. Protoplasma 7, 72.
58. GIROUD, A., C. P. LEBLOND et M. RABINOWICZ. 1934. Répartition de la vitamine C dans l'organisme. C. R. Soc. Biol. 115, 1088.
59. GIROUD, A., C. P. LEBLOND et M. GIROUX. 1934. La vitamine C dans l'ovaire et le corps jaune. C. R. Ac. Sc.
60. GIROUD, A. et C. P. LEBLOND. 1934. Etude histochimique de la vitamine C dans la glande surrénale. Arch. anat. micros. XXX, 105.
61. GIROUD, A. et C. P. LEBLOND. 1934. Détection histochimique de l'acide ascorbique ou vitamine C. Bull. Hist. appl. 11, 365.
62. GIROUD, A. et C. P. LEBLOND. 1934. Localisation histochimique de la vitamine C dans le cortex surrénal. C. R. Soc. Biol. 115, 705.
63. GIROUD, A. et C. P. LEBLOND. 1934. Localisation de la vitamine C au niveau de la glande génitale mâle. C. R. Soc. Biol. 115, 841.
64. GIROUD, A. et C. P. LEBLOND. 1934. La vitamine C dans l'hypophyse. C. R. Soc. Biol. 116, 629.
65. GIROUD, A. et H. BULLIARD. 1935. Les substances à fonction sulf-hydryle de l'épiderme. Arch. anat. microscop. 31, 271.
- 65 bis. GIROUD, A. et C. P. LEBLOND. 1935. Le taux normal de l'acide ascorbique dans l'organisme. C. R. Soc. Biol. 120, 414.
66. GIROUD, A. et C. P. LEBLOND. 1935. Localisation et évolution dans l'organisme de l'acide ascorbique ou vitamine C. Presse Médicale No. 10.
67. GIROUD, A. et C. P. LEBLOND. 1935. Variations de la teneur des tissus en acide ascorbique (Vitamine C). C. R. Soc. Biol. 118, 1179.
68. GIROUD, A., R. RATSIMAMANGA et M. RABINOWICZ. 1935. L'acide ascorbique ou vitamine C dans les différentes parties de l'hypophyse. C. R. Soc. Biol. 118, 1311.
69. GIROUD, A., C. P. LEBLOND, R. RATSIMAMANGA et M. RABINOWICZ. 1935. L'acide ascorbique ou vitamine C au niveau du tégument. Bull. Soc. française Dermatol. et Syphilogr.

70. GIROUD, A., J. CESA, R. RATSIMAMANGA et M. RABINOWICZ. 1936. Variations de l'acide ascorbique dans l'ovaire et spécialement dans le tissu lutéinique. *C. R. Soc. Biol.* 122, 899.
71. GIROUD, A., R. RATSIMAMANGA, M. RABINOWICZ et E. HARTMANN. 1936. L'acide ascorbique au cours de la cadavérisation. *C. R. Soc. Biol.* 121, 739.
72. GIROUD, A., R. RATSIMAMANGA, M. RABINOWICZ, A. SANTOS-RUIZ et J. CESA. 1936. Capacité de synthèse de l'acide ascorbique chez le fœtus humain. *C. R. Soc. Biol.* 123, 1038.
73. GIROUD, A., C. P. LEBLOND, R. RATSIMAMANGA et M. RABINOWICZ. 1936. L'acide ascorbique ou vitamine C dans la cellule et sa détection. *Protoplasma* 25, 115.
74. GIROUD, A., C. P. LEBLOND, R. RATSIMAMANGA, R. CHUC et M. RABINOWICZ. 1936. Instabilité du taux de l'acide ascorbique chez les animaux carençables. Fixation, élimination. *J. de Physiol. et de Pathol. générale* 34, 437.
75. GIROUD, A., R. RATSIMAMANGA, C. P. LEBLOND et M. RABINOWICZ. 1937. Relations entre le fonctionnement de l'ovaire et la vitamine C. *Gynécologie et Obstétrique*. 35.
76. GIROUD, A., R. RATSIMAMANGA, C. P. LEBLOND, M. RABINOWICZ et H. DRIEUX. 1937. Répartition générale de l'acide ascorbique dans l'organisme et déductions. *Bull. Soc. Chim. biol.* 19, 1105.
77. GIROUD, A., R. RATSIMAMANGA, M. RABINOWICZ et H. CHALOPIN. 1937. Comportement particulier de l'hypophyse vis-à-vis de l'acide ascorbique. *C. R. Soc. biol.* 124, 41.
78. GIROUD, A. et C. P. LEBLOND. 1937. Histological study of renal elimination of ascorbic acid. *Anat. Rec.* 68, 113.
- 78 bis. GIROUD, A., R. RATSIMAMANGA, M. RABINOWICZ et E. HARTMANN. 1937. Les besoins en vitamine C et leur satisfaction chez l'homme. *Presse Médicale* No. 99.
79. GIROUD, A. 1938. Répartition de la vitamine C dans l'organisme. *Ergeb. der Vitaminforschung und Hormonforschung*. I, 69—113.
- 79 bis. GIVENS, M. H. et Mc. CLUGAGE (H. B.). 1920. The antiscorbutic properties of dehydrated meat. *Science* 51, 273—275.
80. GLICK, D. et G. R. BISKIND. 1935. The quantitative distribution of vitamin C in the hypophysis cerebri. *J. biol. Chem.* 110, 583.
81. GLICK, D. et G. R. BISKIND. The histochemistry of the adrenal gland. *Journ. of biol. Chem.* 110, 1.
82. GLICK, D. et G. R. BISKIND. 1935. Studies in histochemistry. VI. The quantitative distribution of vitamin C in the small intestine. *J. biol. Chem.* 113, 427—32.
83. GLICK, D. et G. R. BISKIND. 1936. Vitamin C in Thymus. *J. of biol. Chem.* 114, 1—7.

84. GLICK, D. et G. R. BISKIND. 1936. Studies in histochemistry. VIII. Relationship between concentration of vitamin C and development of pineal gland. *Proc. Soc. exper. biol. a Med.* 34, 866—70.
- 84 bis. GLICK, D. et G. R. BISKIND. 1936. Studies in histochemistry X. Distribution of vitamin C in the lens of the eye. *Arch. of Ophtalm.* 16, 990—95.
85. GLICK, D. et G. R. BISKIND. 1936. The quantitative distribution of vitamin C in the adrenal gland at various stages of development. *J. biol. Chem.* 115, 551.
86. GOETTSCH, M. 1929. Relations entre la vitamine C chez l'oestrus du cobaye et la faculté de fécondation du sperme. *Proc. Soc. exper. Biol. Med.* 27, 71.
87. GOUGH, J. et S. S. ZILVA. 1933. The silver nitrate staining reaction for ascorbic acid in the adrenal, pituitary and ovary of various species of animals. *Biochem. J.* 27, 1279.
88. GOUREVITCH, M. A. 1937. La distribution de la flavine dans les tissus des mammifères en relation avec leur respiration résiduelle en présence des cyanures. *Bull. Soc. Chim. biol.* 19, 527.
89. GUGGISBERG, H. 1938. Vitamine und Fortpflanzung. *Ergebn. der Vitamin- und Hormonforschung.* I. Band, 263.
90. GUHA, B. C. et J. C. PAL. 1936. Combined Ascorbic acid in food-stuffs. *Natura (London)* 137, 946.
91. HARDE. 1934. Acide ascorbique (vitamine C) et intoxications. *C. R. Acad. Sci.* 199, 618.
92. HARRIS, L. J. 1933. Chemical test for vitamin C and the reducing substances present in tumour and other tissues. *Nature* 132, 27—28.
93. HARRIS, L. J. et S. N. RAY. 1933. Vitamin C and the suprarenal cortex. II. Loss of potency of guinea pig suprarenal in scurvy with notes on a method for determining antiscorbutic activity of hexuronic acid by chemical means. *Bioch. J.* 27, 303.
94. HENRY E. W. MC. and M. GRAHAM. 1935. Observations on the estimation of ascorbic acid by titration. *The Biochem. Journ.* 29, 2013.
95. HÖJER, A. 1926. Alveolar pyorrhea and caries in relation with the lack of vitamin C. *Brit. J. exper. Path.* 7, 356.
- 95 bis. HÖJER, A. 1925. The influence of lemon juice on tissue respiration of normal and scorbutic guinea-pig. *Skand. arch. Physiol.* 47, 242.
96. HOLTZ, P. 1937. Formation d'histamine à partir de l'histidine sous l'influence de l'acide ascorbique. *Naturwiss.* 25, 14.
97. HOU, H. C. 1936. Fixation of ascorbic acid by tissues. *Proc. Soc. exper. Biol. a. Med.* 34, 833—35.
98. HUSZAK, ST. 1933. Über den Ascorbinsäuregehalt der Corpora lutea. *Hoppe Seylers Zeitschr. f. physiol. Chem.* 219, 275.
99. HUSZAK, ST. 1933. Zur Chemie des Nebennierenmarkes. *Zeitschr. f. physiol. Chem.* 222, 229.

100. JACOBSEN, E. 1935. On the storage of ascorbic acid in the intestinal wall of the guinea pig. *Acta med. scand.* (Stockh.) 85, 419—24.
101. JACOBSEN, E. 1935. L'intestin lieu de dépôt de l'acide ascorbique. *C. R. Soc. biol.* 118, 924.
102. JADASSOHN et SCHAAF. 1934. Zur Frage der depigmentierenden Wirkung der l-Ascorbinsäure (Vitamine C). Durch Follikelhormon erzeugte Hyperpigmentation und Vitamin C. *Klin. Wschr.* 13, 845.
103. JAKOWLEW, I. N., PODSOROW et G. DERTSCHINSKIJ. 1935. *Ginek.* No. 6, 7—15 (en russe).
104. JAWORSKY, M., PH. ALMADEN et C. G. KING. 1934. The vitamin C content of human tissues. *J. Biol. Chim.* 106, 525.
105. JENEY, A. v. et B. VON KORPASSY. 1934. Verzögerte Heilung der Haut und Knochenwunden bei Skorbuttieren. Erfolgreiche Behandlung mit Ascorbinsäure. *Zbb. Chir.* 2836—47 (Szeged, Hongrie).
106. JOYET-LAVERGNE, PH. 1926. Le rH intracellulaire et la sexualité. *Rev. Gén. Sc. et appl.* 37, 546.
107. JOYET-LAVERGNE, PH. 1928. La recherche qualitative du glutathion. *Bull. Histol. appliquée* V, 331.
108. JOYET-LAVERGNE, PH. 1929. Glutathion et chondriome. *Protoplasma* 6, 84.
109. JOYET-LAVERGNE, PH. 1931. La physico-chimie de la sexualité. *Protoplasma Monographien.* Berlin.
110. JOYET-LAVERGNE, PH. 1935. Contribution à la recherche de la vitamine A dans les cellules animales et végétales. *C. R. Acad. sc.* 200, 346.
111. JOYET-LAVERGNE, PH. 1936. Contribution cytophysiologique à l'étude du rôle de la vitamine A. *Bull. Soc. Chim. biol.* 18, 1041.
112. KALNINS, V. 1935. Untersuchungen über die animale Production von Vitamin C. *Upsala Läk. för. Förh. N. F.* 41, 355—61.
113. KALNINS, V. 1937. Über die Bestimmung des Gehaltes an Vitamin C im menschlichen Gehirn mittels der Zahntestmethode. *Klin. Wschr.* 16, 93.
114. KELLIE, A. E. et S. S. ZILVA. 1936. Alleged presence of dehydroascorbic acid in blood. *Biochem. J.* 30, 361—68.
115. KING, C. G. 1936. Vitamin C, ascorbic acid. *Physiological Reviews* 16, 238.
116. KOTAKE et NISHIGAKI. 1933. Über Vitamosazone. *Hoppe Seylers Ztschr. f. physiol. Chem.* 219, 224.
117. KRAMER, HARMANN et BRILL. 1933. Disturbances of reproduction and ovarian changes in the guinea-pig in relation to vitamin C deficiency. *Amer. J. physiol.* 106, 611.
118. KRASSINSKY, N. 1936. Über Oxydations-Reduktions-Potentiale der Zellen der höheren Pflanzen. *Protoplasma* 25, 41.
119. LAUBER, H. J. 1935. Weitere experimentelle Untersuchungen über die Beziehungen der Vitamine zur Wundheilung. *Bruns Beitr.* 161, 565—73.

120. LEBLOND, C. P. 1934. Recherches histochimiques sur la localisation et le cycle de la vitamine C dans l'organisme. Thèse méd. Paris.
- 120 bis. LEBLOND, C. P. 1938. Mécanisme de l'élimination rénale de la vitamine C. C. R. Soc. Biol. 127, 208.
121. LEMBERG, R., B. CORTIS-JONES et M. NORRIE. 1937. Coupled oxidation of ascorbic and haemochromogens. Nature (London) 139, 1016—17.
122. LEPKOVSKY, S. et M. T. NELSON. 1924. Observations on the persistence of vitamin C in the livers of rats on a scorbutic ration. Journ. biol. Chem. 59, 91.
123. LEY, L. 1937. Ovar und Vitamin C. Arch. f. Gynäkologie 164, 408.
124. LOEPER, M., E. CHABROL, J. COTTET et A. LESURE. 1936. Elimination comparée de l'acide ascorbique par des glandes hépatiques et rénales. C. R. Soc. Biol. 122, 404.
125. LOUREIRO, A. DE. 1936. Ultraviolet absorption spectra of tissue extracts and the spectrographique determination of ascorbic acid. Bull. Soc. Chim. Biol. 18, 757—68.
126. LYMAN, C. M. et C. G. KING. 1936. The effect of diphteria toxin on the vitamin C content of guinea-pig tissues. J. of Pharmacol. 56, 209—215.
127. MALMBERG, M. et H. v. EULER. 1935. C-Vitamin im Gehirn nach verschiedener C-Vitaminzufuhr. Hoppe Seylers Z. physiol. Chem. 235, 97—106.
128. MARINESCO, A., ALEXIANU-BUTTU et OLTEANU. 1936. Quelques données sur la vitamine C et ses variations dans le liquide céphalo-rachidien à l'état normal et pathologique. Bull. scient. acad. roumaine 22.
129. MARTINI, E. et A. BONSIGNORE. 1935. Ascorbic acid in the tissues during starvation. Boll. Soc. ital. biol. sper. 10, 60—62.
130. MAWSON, C. 1935. The influence of animal tissues on the oxidation of ascorbic acid. Biochem. J. 29, 569—79.
131. MAZOUÉ, H. 1937. Etude histologique du développement de granulomes expérimentaux chez des cobayes scorbutiques. Arch. d'anatomie microscop. 33, 129.
132. MELKA, J. 1936. Über den Ascorbinsäuregehalt (Vitamine C) in verschiedenen Teilen des Zentralnervensystems und peripheren Nerven. Pflügers Arch. Physiol. 237, 216—21.
133. MENDIVE, J. R. et V. DEULOFEU. 1935. Ascorbinsäure in inneren Drüsen. Isolierung aus Hypophyse. Hoppe Seylers Zeitschr. 236, 208.
134. MIRSKY, I. A., S. SWADESH et S. SOSKIN. 1935. Total ascorbic acid content of human blood. Proc. Soc. exper. Biol. a Med. 32, 1130—31.
135. MIURA-OKABE. 1933. On the antiscorbutic factor in commercially sterilized milk and Japanese green tea. An experiment upon monkey. Sci. papers Inst. Phys. and chem. Res. Tokyo 20, 145—161.

136. MOSONYI, J. 1934. Über die biologische Entstehung des C-Vitamins. *Zeitschr. f. physiol. Chem.* 230, 240.
137. MOSONYI, J. 1936. Einfluß der Sexualhormone auf den C-Vitamin-gehalt der Nebennieren und der Leber von Meerschweinchen. *Hoppe Seylers Zeitschr.* 242, 158—64.
138. MOSONYI, J. 1936. Beiträge zur Frage des Antagonismus zwischen dem Vitamin C und Thyroxin. *Ber. Ges. Physiol.* 94, 664.
139. MOURIQUAND, MICHEL et SANYAS. 1923. Extrait thyroïdien et lésions de carence expérimentale. *C. R. Soc. Biol.* 88, 214.
140. MOURIQUAND, G., A. LEULIER et P. MICHEL. 1925. Dosage du phosphore et de la chaux du tissu osseux et des dents des animaux soumis à l'avitaminose C. *C. R. Soc. Biol.* 92, 269.
141. MOURIQUAND, G. et SCHOEN. 1933. Influence protectrice de la gestation sur la carence en vitamine C. *C. R. Ac. sc.* 197, 203.
142. MOURIQUAND et COEUR. 1935. Acide ascorbique des surrénales et cadavérisation. *C. R. Soc. Biol. Paris* 119, 615—16.
143. MOURIQUAND, SEDAILLAN et COEUR. 1935. Intoxication diphtérique et acide ascorbique des surrénales. *C. R. Acad. des Sciences* 13. Janv. 1936; *C. R. Soc. Biol.* 120, 216; *Presse Médicale* No. 104, Décembre 1935.
144. MOURIQUAND et COEUR. 1935. Fixation et non fixation cellulaires de l'acide ascorbique dans les dystrophies par avitaminose C. *C. R. Soc. Biol.* 120, 1057.
145. MOURIQUAND, G. et P. VIENNOIS. 1937. Action de la cadavérisation sur la teneur des surrénales en acide ascorbique. *C. R. Soc. Biol.* 125, 289.
146. MUELLER, H. K. 1935. Zur Kenntnis der durch Naphtalin hervorgerufenen biochemischen Augenveränderungen und ihre Beeinflussung durch Vitamin C. *Arch. Augenh.* 109, 304—313.
147. NAKAMURA, B. et O. NAKAMURA. 1936. Über die Verteilung von Vitamin C beim Kaninchen im Innern des Auges. *Graefes Arch.* 135, 87—89.
148. NEEDHAM, D. et J. 1925. The hydrogen-ion concentration and the oxidation-reduction potential of the cell-interior: a micro-injection study. *Proc. of Roy Soc. B* XCVIII, 259—286.
149. NEEDHAM, D. et J. 1926. Further micro-injection studies on the oxidation-reduction potential of the cell interior. *Proc. of Roy Soc. B* XCIX, 383—397.
150. NEEDHAM, D. et J. 1926. The oxidation reduction potential of protoplasm: a review. *Protoplasma* Bd. I, 255—294.
151. NESPOR. 1936. Influence de la thyroïde sur les réserves en vitamine C. *C. R. Soc. Biol.* 122, 427.
152. NEUWEILER, W. 1935. Versuche über den Vitamin-C-Stoffwechsel beim Foetus. I. Resorption der Ascorbinsäure aus der Placenta. II. Die Speicherung von Vitamin C in der Nebenniere. *Klin. Wschr.* 14, 1040—41.

153. NOEL. 1922. Recherches histo-physiologiques sur la cellule hépatique des Mammifères. Th. Sciences Paris.
154. NUZZI, P. 1935. Il comportamento dell'acido ascorbico e del glutathione negli organi di cavia trattate con vari veneni batterici. II. Tosina tetanica. Boll. Soc. ital. Biol. sper. 10, 714—15.
155. OTT, E., K. KRAEMER et W. FAUST. 1936. Über eine neben Ascorbinsäure in der Ochsennebenniere vorkommende Verbindung mit starkem Reduktionsvermögen. Hoppe Seylers Zeitschr. 243, 199.
156. PAAL, H. et K. BRECHT. 1937. Ascorbinsäure und Schilddrüsenfunktion. Klin. Wschr. 16, 261—64.
157. PANTSCHENKO-JUREWICZ et KRAUT. 1936. Über Struktur und Eigenschaften der Esterasen. Biochem. Z. 285, 407.
158. PARAT, M. 1928. Contribution à l'étude morphologique et physiologique du cytoplasme. Arch. d'anat. microsc. 24, 74.
159. PARSONS, H. F. 1920. The antiscorbutic content of certain body tissues of the rat. Journ. biol. Chem. 44, 587.
160. PLAUT, F. et M. BÜLOW. 1935. Examen du liquide céphalo-rachidien pour établir les hypo-vitaminosis C. Klin. Wschr. 14, 276.
161. PLAUT, F. et M. BÜLOW. 1935. Klin. Wschr. 14, 1318.
162. PLAUT, F. et M. BÜLOW. 1935. Über Unterschiede im C-Vitamin-gehalt verschiedener Teile des Nervensystems. Z. Neur. 153, 182—192.
163. PLAUT, F. et M. BÜLOW. 1935. Vergleichende Untersuchungen über den C-Vitamin- (Ascorbinsäure-) Gehalt im Blut und im Liquor cerebrospinalis. Hoppe Seylers Ztschr. 236, 241—56.
164. POLICARD, A. A. et M. FERRAND. 1936. La teneur en acide ascorbique de l'ovaire et du corps jaune suivant les divers stades du cycle oestrien. C. R. Soc. Biol. 122, 200—202.
165. POLICARD, A. A. et M. FERRAND. 1936. Teneur en acide ascorbique de l'ovaire et du corps jaune suivant des divers stades du cycle oestrien. C. R. Soc. Biol. 123, 1081.
166. PURR. 1934. The influence of vitamin C (ascorbic acid) on plant and animal amylases. Biochem. J. 28, 1141.
167. QUASTEL, J. H. et A. H. WHEATLEY. 1934. Un effet de l'acide ascorbique sur les oxydations des acides gras dans le foie. The biochem. J. 28, 1014.
- 167 bis. RANDOIN, L. et MICHAUX, A. 1925. Réserves glycogéniques et glycémie artérielle (effective et protéidique) au cours du scorbut expérimental. C. R. Séances de l'Acad. des Sciences. 181, 1179.
168. RATSIMAMANGA, R. 1937. Rapports de l'acide ascorbique de l'activité musculaire. C. R. Soc. Biol. 126, 1134.
169. RAPKINE, L. et R. WURMSER. 1926. Sur le potentiel de réduction du noyau et les oxydations cellulaires. C. R. Soc. Biol. 114, 989.
170. REISS, P. et J. ROCHE. 1931. Recherches physico-chimiques sur le corps vitré de l'œil. Arch. de Physique biol. IX. 77, No. 2.

171. REISS, P. et J. NORDMANN. 1935. Le potentiel de platine et l'équilibre d'oxydation réduction du cristallin et de l'humeur aqueuse d'yeux normaux et cataractés. *Arch. de phys. biol.* 12, 1.
172. RENAUT. 1893. *Traité d'histologie pratique*. Paris.
173. ROHMER, P., N. BEZSSONOFF et E. STOERR. 1936. La teneur particulièrement élevée du liquide céphalo-rachidien en vitamine C chez le prématuré et le nouveau-né normal. *C. R. Soc. Biol.* 121, 986.
174. ROE, J. H. 1936. Determination of ascorbic acid as furfural and a comparison of results obtained by this method and by indophenol titration. *J. biol. Chem.* 116, 609—19.
174. bis. RUSZNYÁK, S. and A. SZENT-GYÖRGYI. 1936. Vitamin P. Flavonols as vitamins. *Nature* 138, 27.
- 174 ter. SATINA, S. et A. F. BLAKESLEE. 1926. Biochemical differences between sexes in green plants. *Proc. of Nat. Ac. sc.* 12, 197.
- 174 quarter. SATINA, S. et A. F. BLAKESLEE. 1927. Further studies on biochemical differences between sexes in plants. *Proc. of Nat. Ac. sc.* 13, 115.
175. SCHROEDER, H. 1935. Vitamin C — Pferdeserum — Skorbut. *Klin. Wschr.* I, 25.
176. SIEHRS et MILLER. 1934. Disappearance of vitamin C from the adrenals of scorbutic guinea pigs. *The J. of Nutrit.* 8, 221.
177. STEPHENS, D. J. et E. H. ESTELLE. 1936. The repartition of reduced ascorbic acid in blood. *J. of Biol. Chem.* 115, 651—658.
178. STEPP, W. et H. SCHROEDER. 1936. Über die Beziehungen des Vitamins C zum Stoffwechsel des Carcinomgewebes. *Z. ges. exp. Med.* 98, 611—22.
179. STINER, O. 1936. Entstehung von Kropf, Zahnkaries und Geschwülsten infolge Vitaminmangels. *Bull. Schweiz. Vereinig. Krebsbekpfg.* 2, 215—224.
180. SVIRBELY, J. L. 1933. The ascorbic acid content of the adrenals and livers of different animals. *Biochem. J.* 27, 960.
181. SVIRBELY, J. L. 1935. L'action perturbatrice du glutathion dans le dosage de l'acide ascorbique par le nitrate d'argent. *Biochem. J.* 29, 1547—51.
182. SVIRBELY, L. J. 1935. The effect of desiccated thyroid, α -dinitrophenol and cortical hormone extract on the vitamin C content of some organs of the guinea-pig fed graded doses of ascorbic acid. *J. Biol. Chem.* 111, 147—54.
183. SZENT-GYÖRGYI, A. 1928. Observations on the function of peroxydase system and the chemistry of the adrenal cortex. Description of a new carbohydrate derivative. *Biochem. J.* 22, 1387.
- 183 bis. SZENT-GYÖRGYI, A. 1932. Vitamin C, Adrenalin und Nebenniere. *Deutsche med. Wochenschr.* 58, 852.

- 183 ter. SZENT-GYÖRGYI, A. 1933. Identification of vitamin C. *Nature* 131, 225—226.
184. TAUBER, H. et J. S. KLEINER. 1935. A method for the quantitative determination of ascorbic acid (vitamin C). *J. of biol. Chem.* 108, 563.
185. TAYLOR, F. H. L., D. CHASE et J. M. FAULKNER. 1936. Ascorbic acid in serum and plasma. *Biochem. J.* 30, 1119—25.
186. TONUTTI, E. et E. PLATE. 1937. Über das Vitamin C in der menschlichen Placenta. *Archiv f. Gynäkologie* 164, 385.
187. TOZER, F. M. 1920. The effect on the guinea pig of deprivation of vitamin A and of the antiscorbutic factor with special reference to the condition of the costochondral junctions of the ribs. *Journ. Path. Bact.* 24, 306—325.
188. VILLELA, G. G. et A. PENNA DE AZEVEDO. 1936. Vitamina C (acido ascorbico) e glandulas suprenais. "O Hospital" Anno VIII t. 2, No. 10.
- 188 bis. WACHHOLDER, K. et UHLENBROOCK. 1935. Steigerung des Gehaltes der Organe an reduzierenden Substanzen (Glutathion et acide ascorbique) im Training. *Pflüger's Arch.* 236, 20—29.
189. WATSON et MITOLO. 1934. *Biochem. J.* 28, 811.
190. WESTERGAARD, B. 1934. Vitamin C in the adrenal glands and the hypophysis cerebri of the ox. *Biochem. J.* 28, 1212.
191. WOLBACH et HOVE. 1926. Intercellular substances in experimental scorbutus. *Arch. of Pathol. and Lab. Med.* 1, 1—24.
192. WOLFF, L. K., M. V. EEKELEN et A. EMMERIE. 1933. Determination of vitamin C. *Acta brevia neerland.* 3, 44.
- 192 bis. WOLFF, L. K., BANNING et VAN EEKELEN. 1936. Alimentation de plusieurs groupes de familles aux Pays-bas (avec détermination de la teneur en vitamines A et C et recherche de ces deux vitamines dans le sang et dans l'urine). *Soc. des Nations Bull. trimestriel de l'organisation d'hygiène.* 5, 617.
193. WOODWARD, G. E. 1935. Glutathion et acide ascorbique dans les tissus de rats normaux et cancéreux. *Biochem. J.* 29, 2405—12.
194. WURMSER, R. et J. A. DE LOUREIRO. 1933. Le potentiel d'oxydo-réduction de l'acide ascorbique. *C. R. Soc. Biol.* 113, 543.
194. bis. R. WURMSER et J. A. DE LOUREIRO. 1934. La réversibilité de l'oxydation de certains dérivés des glucides et en particulier de l'a. ascorbique. *J. de Chim. physique* 31, 419.
195. YOUNG et MITOLO. 1934. A reducing substance in brain tissue. *Nature* 133, 572.
196. ZILVA, S. S. 1935. The ascorbic acid content of the intestine of the guinea-pig. *The biochem. Journ.* 29, 100—101.
197. ZIMMET, D. et H. DUBOIS-FERRIÈRE. 1937. Teneur en vitamine C et en glutathion réduit de l'amygdale chez l'homme. *C. R. Soc. Biol.* 124, 247.
-

III

BIBLIOGRAPHIE

Concernant les cellules et les tissus végétaux

1. AHMAD, B. 1935. Teneur en vitamine C de quelques fruits indiens communs, de plantes légumineuses et oléracées, déterminée par la méthode chimique. Ind. J. med. Res. 22, 789—99.
2. ARLOING, F., A. MOREL et A. JOSSEAND. 1935. Action favorisante, sur une tumeur expérimentale, d'injections intraveineuses d'acide l-ascorbique non associé au fer ou associé au Cu. C. R. Soc. Biol. 120, 205—206.
3. BAAS BECKING. 1935. 1936. Proceedings d. II. Botanikerkongr. Leiden. II. Bd. S. 266 zitiert von A. STOLL. Naturwiss. 24, 59.
4. BAEYER. 1870. Über die Wasserentziehung und Bedeutung für Pflanzenleben und die Gährung. Bericht d. deutsch. Chem. Ges. 3, 63.
5. BAUMANN, E. S. et METZGER. 1933. Ascorbic acid from *Iris* other plants by a simplified method. Proc. Soc. exp. Biol. Med. 30, 1268.
6. BERNHAUER, K., B. GÖRLICH et E. KÖCHER. 1936. Über die Bildung C vitaminähnlicher Substanzen durch Pilze und Bakterien. I. Biochem. Zeitschr. 286, 60—65.
7. BESSEY, O. A. et C. G. KING. 1933. The distribution of vitamin C in plant and animal tissues and its determination. Journ. of biol. Chem. 103, 687.
8. BEZSSONOFF, N. 1922. Sur les réactions colorées des extraits antiscorbutiques et des polyphenols avec un acide phosphomolybdotungstique. Bull. Soc. Chim. 4, 83.
9. BIELING, R. 1925. Versuche über die Bildung von Vitamin durch Bakterien. Zeitschr. Hyg. 104, 347—57.
10. BOGART, R. et J. S. HUGHES. 1935. L'acide ascorbique (vitamine C) dans l'avoine germé. J. Nutrit. 10, 157—60.
11. BOMSKOW, CH. 1935. Methodik der Vitaminforschung. Verlag Georg Thieme. Leipzig.
12. BOURNE, G. et R. ALLEN. 1935. The distribution of vitamin C in lower organisms. The Australian Journ. of experimental Biology and Medical Science. Vol. XIII, 165.
13. BRACEWELL, M. F. u. S. S. ZILVA. 1931. Ebenda 25, 1081.
14. BRIGGS, G. E. Experimental researches on vegetable assimilation and respiration XIII. Proc. Roy. Soc. B. 91, 249.

15. BROOKS, M. M. 1926. Studies on the permeability of living cells. VI. The penetration of certain oxidation-reduction indicator as influenced by pH; estimation of the rH of *Valonia*. Amer. Journ. of Physiol. vol. LXXVI, p. 360—379.
- 15 bis. CARUSO, C. 1938. Quelques remarques sur les chromoplastes. Protoplasma 30.
16. CASERIO, E. 1934. Das Vitamin C in der Mispel und in der Alchechengi-frucht (Judenkirsche). Zeitschr. Vitaminforschung 3, 93.
17. CASERIO, E. 1935. Teneur en vitamine C des concombres, fraises, de la jujube mûre et des baies de frêne de montagne vertes et mûres. Zeitschr. Vitaminforschg. 4, 173—77.
- 17 bis. CHEN, T. and C. CHEN. 1931. Natl. Peping Univ. Agr. Res. Bull. No. 4.
18. CHICK, H. and A. H. SMITH. 1918. The relative content of anti-scorbutic principle in lemons and limes. Lancet II, 765.
19. CHICK, H. and M. RHODES. 1918. The antiscorbutic value of root vegetables with a view of their adoption in adjuvant to the dietary of infants. Lancet II, 774.
20. CHICK, H. et E. DALYELL. 1919. Skorbutgefahr in Wien. Klin. Wschr. 32, 1219.
21. CHICK, H. and E. M. DELF. 1919. The antiscorbutic value of dry and germinated seeds. Biochem. Journ. 13, 199—218.
22. COHEN, B. and L. B. MENDEL. 1918. Experimental scurvy of the guinea-pig in relation to the diet. Journ. Biol. Chem. 35, 425—453.
- 22 bis. CRANE, M. B., and S. S. ZILVA. 1932. The antiscorbutic potency of apples. Biochemical J. 26, 2177.
23. CURTIUS, TH. u. H. FRANZEN. 1912. Über die chemischen Bestandteile grüner Pflanzen. I. Über den Blätteraldehyd. Lieb. Ann. 390, 89.
24. CZAPEK, F. 1920. Zur Kenntnis der silberreduzierenden Zellsubstanzen in Laubblättern. Ber. d. D. Bot. Ges., p. 240.
25. DAVEY, A. J. 1921. Determination of the minimum doses of some fresh citrus fruits juices which will protect a guinea-pig from scurvy. Together with some observations on the preservation of such juices. Biochem. Journ. 15, 83—103.
26. DISCHENDORFER, O. 1937. Über den histochemischen Nachweis von Vitamin C (l-Ascorbinsäure) in Pflanzen. Protoplasma 28, 516.
27. DISCHENDORFER, O. 1937. Über Vitamin C in Gladiolenblättern. Arch. d. Pharm. u. Ber. Deutsch. Pharm. Ges.
28. DOWE, W. F. et E. MURPHY. 1936. The vitamin C content of apples and its relation to human welfare. Science I, 325—27.
29. EEKELEN, M. VAN, EMMERIE et WOLFF. 1934. Determination of vitamin C in germinated seeds. Acta brevia Neerland. 4, 3.
30. EGGLETON, P. and L. HARRIS. 1925. Ultraviolet light and the anti-scorbutic Vitamin. Brit. med. Journ. II, 989—991.

31. EMBERGER, L. 1927. Nouvelles recherches sur le chondriome de la cellule végétale. *Rev. Gén. Bot.* 39.
32. EULER, B. v., H. v. EULER et P. KARRER. 1929. *Helv. Chim. Acta* 12, 278.
33. EULER, H. v. et E. KLUSMANN. 1933. Zur Biochemie der Carotinoide und Vitamine C (Ascorbinsäure). *Zeitschr. f. physiol. Chem.* 219, 215—28.
34. FODOR, E. et S. KUNOS. 1935. Die Wirkung der reinen Ascorbinsäure (C-Vitamin) auf das Wachstum des experimentellen Mäusecarcinoms. *Zeitschr. Krebsforsch.* 40 (6), 567—71.
35. FODOR, A. et R. SCHOENFELD. 1931. Darstellung und Eigenschaften wässriger Carotinlösungen. *Biochem. Zeitschr.* 233, 243.
36. FREY-WYSSLING. 1937. Der Aufbau der Chlorophyllkörner. *Protoplasma* 29. 279.
37. FÜRST, V. 1912. Weitere Beiträge zur Ätiologie des experimentellen Skorbut des Meerschweinchens. *Zeitschr. Hyg. Infektionskr.* 72, 121—154.
38. GAUTHERET. 1934. Recherches sur la réduction du nitrate d'argent par les chloroplastes. *C. R. Acad. Sc. Paris* 198.
39. GAUTHERET. 1935. Recherches sur la formation de la chlorophylle dans les racines et la réduction des sels d'argent par les chloroplastes. Thèse Sc. Paris.
40. GAVAUDAN, P. 1930. Recherches sur la cellule des hépatiques. Thèse Sc. Paris.
41. GEITLER. 1922. Über die Verwendung von Silbernitrat zur Chromatophorendarstellung. *Österr. Bot. Zeitschr.* 71.
42. GIROUD, A., C. P. LEBLOND et R. RATSIMAMANGA. 1934. Signification de la réduction des sels d'argent au niveau des plastes chlorophylliens. *C. R. Soc. Biol.* 117.
43. GIROUD, A., R. RATSIMAMANGA et C. P. LEBLOND. 1934. Parallélisme entre la vitamine C et la chlorophylle. *C. R. Soc. Biol.* 117, 612.
44. GIROUD, A., R. RATSIMAMANGA et C. P. LEBLOND. 1935. Relations entre la vitamine C et les caroténoides. *C. R. Soc. Biol.* 118, 874.
45. GIROUD, A., R. RATSIMAMANGA et C. P. LEBLOND. 1935. Relation entre l'acide ascorbique et la chlorophylle. *Bull. Soc. chim. Biol.* t. 17, 232.
46. GIROUD, A., R. RATSIMAMANGA, C. P. LEBLOND, H. CHALOPIN et M. RABINOWICZ. 1936. Relation entre l'acide ascorbique et les caroténoides. *Bull. Soc. Chim. Biol.* t. 18, No. 3, 573.
47. GIROUD, A. 1938. Répartition de la vitamine C dans l'organisme. *Ergebnisse der Vitamin- und Hormonforschung.* 1, p. 69—113.
48. GLICK, D. 1937. The quantitative distribution of ascorbic acid in the developing barley embryo. *C. R. Trav. Lab. Carlsberg.* 21, 203.

49. GIVENS, M. H. and McCLUGAGE, H. B. 1918. The antiscorbutic properties of fruits. An experimental study of raw and dried tomatoes. *Proc. Soc. Exper. Biol. Med.* 16, 2.
50. GRJASNOW, N. I. et J. N. ALEXEJEWA. 1934. Vitamin C in den Nadeln der Kiefer, den Lindenblättern, im Wegegras und im Klee. *Problems Nutrit.* 3, No. 5, 57—62.
51. GUHA, B. C. et A. R. GHOSH. 1935. La formation biologique de l'acide ascorbique. *Nature*, London 135, 234.
52. GUHA, B. C. et A. R. GHOSH. 1935. La synthèse biologique de l'acide ascorbique. *Nature* 135, 871.
53. GUILLIERMOND, A. 1931. Sur l'emploi des méthodes argentiques pour la coloration des plastes et sur les propriétés réductrices des chloroplastes. *C. R. Soc. Biol.* 106, p. 270.
54. GUILLIERMOND, A., MANGENOT, PLANTEFOL. 1933. *Traité de Cytologie végétale*. Paris.
55. GUILLIERMOND, A. 1934. Les constituants morphologiques du cytoplasme: le chondriome. — *Actualités scientifiques et industrielles* No. 170. Hermann, Paris.
56. HAHN, F. V. VON. 1930. Etudes sur les vitamines. Recherches expérimentales sur la teneur en vitamines des aliments et des stimulants de la nutrition. *Ztschr. Unters. Lebensmittel* 59, 4.
57. HAHN, F. v. 1931. Der Vitamingehalt des Obstes. *Zeitschr. Unters. Lebensmitt.* 61, 367.
58. HAHN, F. v. 1931. Der Vitamingehalt der Gemüsearten des deutschen Kleinhandels. *Zeitschr. Unters. Lebensmitt.* 61, 545.
59. HAHN, F. v. 1933. Vitaminstudien. VII. C Vitamingehalt einiger ungebräuchlicher Nahrungsmittel. *Z. Unters. Lebensmittel* 66, 261.
60. HARA, S. 1923. Über den Vitamingehalt verschiedener Speisepilze. *Biochem. Zeitschr.* 142, 79—100.
61. HARDEN, A. and S. S. ZILVA. 1918. Note on the etiology of scurvy in guinea pigs. *Biochem. Journ.* 12, 270—72.
62. HARDEN, A. 1918. The antiscorbutic factor in lemon juice. *Biochem. Journ.* 12, 259—269.
63. HARRIS, L. J. and S. N. RAY. 1933. Specificity of hexuronic acid as antiscorbutic factor. *Biochem. J.* 27, 580.
64. HAUSEN, S. v. 1935. Effect of vitamin C on the growth of plants. *Suamen Kem.* 8, B. 50.
65. HAVAS, L. 1935. Ascorbic acid (vitamine C) and the germination and growth of seedlings. *Nature* (London) 136, 435.
66. HEITZ, E. 1936. Gerichtete Chlorophyllscheibchen als strukturelle Assimilationseinheiten der Chloroplasten. *Ber. d. D. bot. Gesellschaft* 54, 362.
67. HEITZ, E. 1936. Untersuchungen über den Bau der Plastiden. I. Die gerichteten Chlorophyllscheibchen der Chloroplasten. *Planta* 26, 135.

68. HELLER, V. G. 1928. Light effect on vitamin synthesis. *J. Biol. Chem.* 76, 499.
69. HESS, A. F. 1916. 1917. The therapeutic effect of wheat embryo and of yeast in infantile scurvy. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 13, 145 et *Am. Journ. Diseases Childr.* 13, 98.
70. HESS, A. F. and L. J. UNGER. 1918. The scurvy of guinea pigs. Experiments on the effect of addition of fruits and vegetables to the dietary. *Journ. Biol. Chem.* 35, 487—96.
71. HESS, A. F. and L. J. UNGER. 1918. Canned tomatoes as an anti-scorbutic. *Proc. Soc. Exper. Biol. Med.* 16, 1.
72. HOLST, A. and T. FRÖHLICH. 1907. Experimental studies relating to ship beriberi and scurvy. *Journ. Hyg.* 7, 634—671.
73. HOLST, A. und T. FRÖHLICH. 1912. Über experimentellen Skorbut. *Zeitschr. Hyg. Infekt.* 72, 1—120.
- 73 bis. HUSZÁK, ST. 1933. Über den Ascorbinsäuregehalt der Corpora lutea. *Hoppe Seylers Zeitschr. f. physiol. Chem.* 219—220, 275.
74. IJDO, J. B. H. 1935. Relation between soil condition and the carotene and vitamin C content of plants. *Acta Brevia Neerland Physiol. Pharmacol. Microbiol.* 5, 167—69.
75. IJDO, J. B. H. 1936. The influence of fertilizers on the carotene and vitamin C content of plants. *The biochem. Journ.* Vol. XXX, p. 2307.
76. IJDO, J. B. H. 1936. De invloed der Bemesting op Het Carotine en Vitamine C-Gehalte van de Plant. Utrecht.
77. IRVING, A. A. 1910. The beginning of photosynthesis and the development of chlorophyll. *Ann. of. Bot.* 24, 805.
78. IVANOF, N. N., V. J. MARGA et N. P. ONODHOVA. 1934. Le problème des vitamines. Leningrad, p. 155.
79. JOHNSON, S. W. 1933. The indophenol reducing capacity and the vitamin C content of extracts of young germinated peas. *Biochem. J.* 27, 1942.
- 79 bis. PH. JOYET-LAVERGNE. 1926. Le rH intracellulaire et la sexualité. *Rev. Gén. Sc. et appl.* 37, 546.
- 79 ter. PH. JOYET-LAVERGNE. 1929. Glutathion et chondriome. *Protoplasma* 6, 84.
- 79 quarter. PH. JOYET-LAVERGNE. 1931. La physico-chimie de la sexualité. *Protoplasma Monographien.* Berlin.
80. KEY. 1933. The determination of vitamin C in diploid and tetraploid tomatoes. *Biochem. J.* 27, 153—156.
- 80 bis. C. G. KING. 1936. Vitamin C, acid ascorbic. *Physiological Reviews* vol. 16, p. 238.
81. KIYOHARA. 1930. Über „osmiophile Plättchen“ Bowens in pflanzlichen Zellen. *Cytologia* 1.
82. KIYOHARA. 1935. Zur Schimper-Meyerschen Theorie der Vermehrung der Chloroplasten. *J. Fac. Sc. Univ. Tokyo*, 4.

83. KLEINER, J. S. et H. TAUBER. 1936. Vitamin C studies. The requirement of mice, the effect of large quantities, and the question of its formation biologically. *Food Res.* 1, 399—404.
- 83 bis. KRASSINSKY, N. 1936. Über Oxydations-Reduktions Potentiale der Zellen der höheren Pflanzen. *Protoplasma* 25, 41.
84. KUHN, R. et P. J. DRUMM. 1932. *Ber. d. deutsch. Chem. Ges.* 65, 1458.
85. KUHN, R. et F. WEYGAND. 1936. O- und p-Nitrophenyl-hydroxylamin. *Ber. d. D. chem. Ges.* 69, 1970.
86. KÜSTER. 1935. Die Pflanzenzelle. Jena.
87. KÜSTER. 1937. Pathologie der Plastiden. *Protoplasma-Monographien* 13, Berlin.
88. LAPORTA, M. et E. RINALDI. 1935. Sulla sintesi di acido ascorbico nei tessuti in vitro. *Boll. Soc. ital. Biol. sper.* 10, 319—22.
89. LEPESCHKIN. 1933—35. Nekrobiotische Strahlen. *Protoplasma* 20—22.
90. LEPESCHKIN. 1937. Zell-Nekrobiose und Protoplasma Tod. *Protoplasma-Monographien* 12, Berlin.
91. LEVY, L. F. et F. W. FOX. 1935. Antiscorbutic value of lucerne. *Biochem. J.* 29, 884—888.
92. LIEBALDT. 1937. Ein geeignetes Objekt zum Studium des Golgi-Binnen-Apparates pflanzlicher Zellen. *Protoplasma* 27.
93. LINDERSTRÖM-LANG, K. and H. HOLTER. 1932. *Compt. rend. Lab. Carlsberg* 19, No. 6. *Zeitschr. physiol. Chem.* 204, 15.
94. LINSBAUER. 1926. Beobachtungen an Spaltöffnungen. *Planta* 2.
95. LOEW u. BOKORNY. 1882. Die chemische Kraftquelle im Protoplasma. München.
96. LUSTIG, B. et H. WACHTEL. 1936. Recherches sur la chimiothérapie du Cancer. *Bull. du Cancer.* Tome 25, p. 542.
97. MANGENOT, S. 1922. Recherches sur les constituants morphologiques du cytoplasme des algues. *Arch. Morph. gén. et exp. fasc.* 9.
98. MAQUENNE. 1923. Sur la théorie de la synthèse chlorophyllienne. *C. R. Acad. Sc.* 177, 853.
99. MARTINI et BONSIGNORE. 1934. Eine neue Methode der Ascorbinsäurebestimmung (Vitamin C). *Biochem. Zeitschr.* 273, 170.
100. MATSUOKA, T. 1935. Vitamin C. XVII. Chemical nature of vitamin C. 6. Change of content of vitamin C in barley. *Mem. Coll. Agr. Kyoto Imp. Univ.* No. 35, 93—108.
101. MATTEI, P. DI. 1923. Sui fattori complementari dell'alimentazione. Le vitamine dei funghi mangerecci. *Policlinico* 30, 221—238.
102. MATZKO, S. N. 1936. Vitaminträgerstudien XX. A. Vitaminwert der Tannennadeln. *Zeitschr. Unters. Lebensm.* 71, 330—32.
103. MAYER et PLANTEFOL. 1928. Le pouvoir hydrogénant des tissus végétaux et de leurs constituants solubles. *Ann. Physiol. et Physico. biol.* 4, 297.

104. MC CLENDON, J. F., W. C. COLE, O. ENGSTRAND and J. E. MIDDLEKAUF. 1919. The effect of malt and malt extracts on scurvy and on the alkaline reserve of the blood. *Journ. Biol. Chem.* 40, 243—258.
105. MENKE. 1933. Chloroplasten-Studien. *Protoplasma* 21.
106. MENTZER, C. et A. VIALARD-GOUDOU. 1937. Contribution à l'étude de l'acide ascorbique réduit. Remarques sur le dosage par la méthode au bleu de méthylène. *Bull. de la Soc. de Chim. Biol.* t. 19, p. 707.
107. MEYER. 1920. *Analyse der Zelle.* Jena.
108. MILLER, C. D. et C. R. ROBBINS. 1934. Vitamin C in fresh pine-apple, juice and in guavas. *Hawaii Agr. Expt. Sta. Rept.* 25, 1933.
- 108 bis. MIRIMANOFF. 1938. Vitamine C et chlorophylle. *C. R. Acad. Sci.* t. 206, p. 766.
- 108 ter. MIRIMANOFF. 1938. Vitamine C et caroténoides. *C. R. Acad. Sci.* t. 206, p. 1038.
109. MOLISCH, H. 1902. Über vorübergehende Rotfärbung der Chlorophyllkörner in Laubblättern. *Ber. d. Deutsch. Bot. Ges.* 20.
110. MOLISCH, H. 1915. Das Chlorophyllkorn als Reduktionsorgan. *Sitzungsber. d. Kais. Akad. d. Wiss. i. Wien. Abt. I.* Bd. 124, p. 507.
111. MOLISCH, H. 1921. Beitrag zur Mikrochemie der Pflanzen, Nr. 16. Zur Silberreduktion der Chlorophyllkörner. *Ber. d. D. bot. Ges.* 39, 136.
- *112. MOLISCH, H. 1921. *Mikrochemie der Pflanzen.* 2. Aufl., S. 160.
113. MUNSELL, H. E. et M. H. KENNEDY. 1935. The vitamin A, B, C, D and G contents of the outer green leaves and the inner bleached leaves of Iceberg lettuce. *J. Agr. Res.* 51, 1041—6.
114. NOACK, K. 1925. *Zeitschr. f. Botanik* 17, 481.
115. ORLOW, N. J. 1935. Vitaminträgerstudien. XVI. Über die Wirkung einiger Extraktionsmittel auf die antiskorbutische Aktivität des Tannennadelaufgusses. *Zeitschr. Unters. Lebensmittel* 70, 285—88.
- 115 bis. PEKAREK, J. 1938. Die Lokalisation des Silbernitrat-Reduktors in den Chloroplasten. *Protoplasma* 30.
116. POLONOWSKY, M. 1925. La synthèse organique dans le monde végétal. *Bull. Soc. Chim. biol.* 7, 526.
117. RANDOIN, L. et P. PORTIER. 1922. Les boissons fermentées et les idées nouvelles sur la nutrition. *Bull. Soc. Sc. Hyg. Alim.* 10, 345—355.
118. RANDOIN, L. et H. SIMONNET. 1927. Les données et les inconnues du problème alimentaire. T. II. La question des vitamines. *Presses universitaires de France.*
119. RANDOIN, L., A. GIROUD et C. P. LEBLOND. 1935. Relations entre la teneur en vitamine C de divers tissus végétaux et la présence et l'absence de chlorophylle. *C. R. Soc. Biol.* t. 120, 297.
120. RANDOIN, L., A. GIROUD et C. P. LEBLOND. 1935. La teneur en acide ascorbique des tissus chlorophylliens et achlorophylliens. *Bull. Soc. Chim. biol.* t. 17, p. 1649.

121. RANDOIN, L., A. GIROUD et R. RATSIMAMANGA. 1937. Un tissu chlorophyllien est-il réellement beaucoup plus riche en acide ascorbique que le même tissu dépourvu de chlorophylle ? C. R. Soc. Biol. t. 126, No. 34, p. 1068.
- 121 bis. RANDOIN, L. 1937. Les vitamines et les valeurs des procédés de stabilisation du jus de raisin. Rapport au congrès national du raisin et du jus de raisin. Septembre 1937. Revue vinicole.
122. RAPKINE, L. et R. WURMSER. 1926. Le potentiel de réduction des cellules vertes. C. R. Soc. Biol. XCIV, 1347/8.
123. RAY, S, N. 1934. On the nature of the precursor of the vitamin C in the vegetable kingdom. I. Vit. C in the growing pea seedling. Biochem. J. 28, 996.
124. RUHLAND und WETZEL. 1924. Der Nachweis von Chloroplasten in den generativen Zellen von Pollenschläuchen. Ber. Deutsch. Bot. Ges. 42.
125. SAH, P. T. 1933. Structure of vitamin C (ascorbic acid) and a theory of its formation. Sc. report of National Tsinghua University 2, 167.
126. SANSOME, F. W. et S. S. ZILVA. 1933. Polyploidy and Vitamin C. Biochem. J. 27, p. 1935.
127. SAVELLI, R. 1933. Sulle impregnazioni argentiche in citologia vegetale. Note botaniche e biologiche, Catania.
- 127 bis. SAVELLI, R. 1938. Quelques remarques sur la photo-oxydation des pigments plastidiens. Protoplasma 30.
128. SCARTH. 1927. The structural organization of plant protoplasm. Protoplasma 2.
129. SCHEPILEWSKAJA, N. 1934. Propriétés antiscorbutiques des aiguilles de sapin. II. Problems Nutrit. (russ.) 3, No. 2, 24—29.
130. SCHEPILEWSKAJA, N. 1934. Die antiskorbutischen Eigenschaften von Tannennadeln. IV. Mitt. Erhaltung von Vit. C in abgeschlagenen Tannenzweigen. Problems Nutrit. 3, No. 5, 65—66.
131. SCHEUNERT, A. 1930. Vitamingehalt der deutschen Lebensmittel. Berlin.
132. SCHMIDT, A. A. et K. Z. TOULTCHINSKAIA. 1937. Méthode simplifiée de préparation de l'acide ascorbique (vitamine C cristallisée). Bull. Soc. chim. biol. t. XIX, p. 1200.
133. SENN. 1908. Die Gestalts- und Lageveränderungen der Pflanzenchromatophoren. Leipzig.
- 133 bis. SIDORIN, M. J. 1932. Eine neue Lebensreaktion. Beitr. z. Biol. d. Pfl. XX, I. Breslau.
134. STEIDLE, H. 1924. Besitzen eßbare Pilze antiskorbutische Wirkung. Biochem. Zeitschr. 151, 181—186.
135. STROHECKER, R. 1935. Über die Bildung, Entstehung und örtliches Vorkommen von Vitamin C in pflanzlichen Geweben. Zeitschr. Unters. Lebensmittel 70, 76—81.

136. SVIRBELY, J. L. et A. SZENT GYÖRGYI. 1933. The chemical nature of vitamin C. *Biochem. J.* 27, 279.
137. SZANYI, I. 1935. Vitamin C content of paprika fruit. *Természttudományi Közlöny* 65, 527.
138. SZENT GYÖRGYI, A. 1928. Observations on the function of peroxydase system and the chemistry of the adrenal cortex. Description of a new carbohydrate derivative. *Biochem. J.* 22, 1387.
139. SZENT GYÖRGYI, A. 1933. L'acide ascorbique (vitamine C). *Bull. Soc. Chim. Biol.* 25, 694.
140. SZENT GYÖRGYI, A. et HAWORTH. 1933. "Hexuronic acid" (Ascorbic acid) as the antiscorbutic factor. *Nature* 131, 24.
141. SZENT GYÖRGYI, A. 1933. Identification of vitamin C. *Nature* 131, 225—26.
142. TAUBER, E. et J. S. KLEINER. 1935. A method for the quantitative determination of ascorbic acid (vitamine C). *J. of biol. Chem.* 108, 563.
144. TILLMANS, J., P. HIRSCH et R. VAUBEL. 1933. Das Reduktionsvermögen pflanzlicher Lebensmittel und seine Beziehung zum Vitamin C. 6. Die Reindarstellung des reduzierenden Stoffes aus Hagebutten und seine Identität mit dem Vitamin C. *Zeitschr. Unters. Lebensm.* 65, 145.
143. TILLMANS, J., P. HIRSCH et J. JACKISCH. 1932. Das Reduktionsvermögen pflanzlicher Lebensmittel und seine Beziehung zum Vitamin C. III. Der Gehalt der verschiedenen Obst- und Gemüsesorten an reduzierenden Stoffen. *Zeitschr. Unters. Lebensm.* 63, 241.
145. VIRTANEN, A. J., HAUSEN et SAASTEMOINEN. 1933. Untersuchungen über die Vitaminbildung in Pflanzen. *Biochem. Zeitschr.* 267, 179.
146. VIRTANEN, A. J. 1936. Vitamins and plants. *Nature* 137, 779. *Biochem. Institute, Helsingfors.*
147. WARBURG, O. 1919. Über die Geschwindigkeit der photochemischen Kohlensäurezersetzung in lebenden Zellen. *Biochem. Zeitschr.* 100, 230.
148. WEBER, F. 1936. Doppelbrechung und Grana der Chloroplasten. *Mikrochemie, Molisch-Festschrift.* Wien.
149. WEBER, F. 1937. Plastiden-Studien. *Protoplasma*, Bd. 28, Heft 2.
150. WEBER, F. 1938. Silberreduktion der Chloroplasten. *Protoplasma* 29.
151. WEIER. 1936. The structure of the chloroplast of *Pellionia pulchra*. *Cytologia* 7.
152. WEIER. 1936. The structure of the non-starch-containing beet chloroplast. *Americ. Journ. of Botany* 23.
153. WEST, E. S. et L. F. NEY. 1936. Action catalytique de l'acide ascorbique dans la transformation de l'aldéhyde formique en sucres réducteurs. *Science, New York* 84, 294.
155. WIELER, A. 1936. Über den Bau der Chlorophyllkörner. *Protoplasma* 26, 295.

156. WINTERSTEIN, A. u. C. FUNK. 1933. Vitamine. in Handbuch der Pflanzenanalyse. Bd. IV, 1041.
 157. WEILL, E. et G. MOURIQUAND. 1917. Résultats comparés de l'alimentation de cobayes par l'orge complète à l'état quiescent ou à l'état de germination. C. R. Soc. Biol. 80, 33.
 158. WEILL, E., G. MOURIQUAND et M^{lle}. PERONNET. 1918. Sur l'apparition de la substance antiscorbutique au cours de la germination des graines. C. R. Soc. Biol. 81, 607.
 159. WILLSTÄTTER et STOLL. 1913. Untersuchungen über Chlorophyll. Berlin.
 160. WITTSHIRE, H. W. 1918. Value of germinated beans in the treatment of scurvy. Lancet II, 911.
 161. WOLLMAN, E. 1921. Sur le rôle des microorganismes dans la production des vitamines. C. R. Soc. Biol. 85, 801.
 162. WURMSER, R. 1921. Recherches sur l'assimilation chlorophyllienne. Arch. de physiol. biol. 1, 33.
-

INDEX ALPHABETIQUE

- acide ascorbique nature 3
— — réduit 4
— — oxydé 4
— — combiné 5
— déhydroascorbique 3, 4
âge 84
aldéhyde formique 119, 151
amygdales 64
autotrophes plantes 133, 145
- bactéries 193
Bezssonoff (méthode) 9
biochimique (méthode) 8
biologique (méthode) 7
bois 124
bourgeons 125
- carence 12, 87, 94
caroténoïdes 40, 133, 143
catalyseur 95, 97, 151
cataracte 68, 86
cellule 15, 24, 104
céphalo-rachidien (liquide) 67
champignon 103
chlorophylle 122, 125
chlorophyllienne (fonction) 144
chloroplastes 110, 112, 149
chloroplastes (structure) 114, 149
chondriosomes 25, 30
coleoptile 142
corps jaune 56
corps vitré 68
cortico-surrénale 54
cotylédons 140
créatine-phosphorique (acide) 97
- cristallin 68
croissance 152
cytoplasme 25, 110
- déciduales (cellules) 73
dents 72
diastases 95
- embryon 85, 141, 147
Emmerie et Eekelen (méthode) 8
épiderme 40
épiderme végétal 124
épiphyse 61
estomac 43
- feuilles 128, 142
flavines 39
flavone 96
fleurs 129, 143
foie 42
- ganglions lymphatique 64
— hémolymphatique 64
— rachidien 65
— sympathique 65, 97
germination 139
Giroud et Leblond (méthode) 16
glande de Cowper 46
— salivaire 43
— sébacée 45
Glick (méthode) 12
glutathion 33, 37
glycogène 88
Golgi appareil de 27
graines 139
graisse 72

hétérotrophes (plantes) 133, 145
humeur aqueuse 67
hypophyse 47

infections 86
inhibitrices (substances) 32
intestin 41
intoxication 86

lactique acide 97
levure 103
lipoïdes 26

mamelle 45
médullo-surrénale 53
méristèmes 125
moelle osseuse 64
muscle squelettique 69, 97
— cardiaque 71
— lisse 71

noyau 26, 154

œil 67
œsophage 42
ovaire 56
oxydase 95, 97

pancréas 43
parathyroïde 61
parenchymes chlorophylliens 125
parenchymes non chlorophylliens
132
peau 40
physiologie 144

placenta 74
plantule 141
polyplôidie 154
potentiel d'oxydo-réduction 89
poumon 47
prostate 45

racines 126, 128
rate 63
rein 46

sang 4, 62
sclérenchyme 124
scorbut 87, 94, 102
sexe 84
stabilité de l'ac. ascorbique 6
subéreux (tissu) 124
substances extracellulaires 24
— fondamentales 24
surrénale 14, 51, 98
synthèse 87, 146

taux (généralité du) 80
taux normal 82
testicule 59
thymus 63
thyroïde 61
tissu conjonctif 71
— interstitiel 59
tumeurs 75, 157

vacuoles 105
vitamine A 37
vitamine P 88, 96

Grundriß der Cytologie

von Professor Dr. L. Geitler

Mit 209 Textabbildungen (VIII u. 296 Seiten) 1935 Geb. RM 21.—

Das Werk ist ein erstmaliger kurzgefaßter Abriss der allgemeinen Zellenlehre unter gleicher Berücksichtigung pflanzlicher und tierischer Verhältnisse und Betonung der genetischen Richtung. Es ist in erster Linie für Studierende der Biologie gedacht, soll aber auch dem Gebiet fernstehenden Fachgelehrten und Lehrern zur Orientierung dienen. Die Beigabe von rund ein Drittel der Gesamtzahl ausmachenden Originalabbildungen, manche neuen Beobachtungen und neuartige Zusammenfassungen alter Tatbestände machen die Darstellung auch für den engeren Kreis der Cytologen und Genetiker lesenswert.

Schizophyzeen

von Professor Dr. L. Geitler

(Lieferung 32 des Handbuches der Pflanzenanatomie)

Mit 114 Textabbildungen (124 Seiten) 1936 Einzelpr. geh. RM 17.50
Subskriptionspreis bei Abnahme des ganzen Handbuches RM 14.—

Grundriß der vergleichenden Physiologie von Prof. Dr.

W. v. Buddenbrock. Zweite, völlig neu bearbeitete Auflage.

Erster Band: Physiologie der Sinnesorgane und des Nervensystems.

Mit 355 Abbildungen im Text (VIII und 567 Seiten) 1937.

Gebunden RM 42.—

Die Zweitaufgabe von Buddenbrocks Grundriß ist eine völlige Umarbeitung der ersten und stellt im Ganzen ein durchaus neues Werk dar. Es ist auf 3 Bände berechnet. Der Verfasser hat sich bemüht, den gewaltigen Stoff, der im letzten Jahrzehnt beinahe ins Ungemessene angewachsen ist, in kürzester Form zusammenzufassen. Da ein ähnliches Buch in der gesamten Weltliteratur nicht existiert, wird das Werk allen, die sich über den jetzigen Stand der vergleichenden Physiologie orientieren wollen, also nicht nur den Zoologen, sondern auch den Humanphysiologen, ein unentbehrlicher Führer sein.

Praktikum der Zell- und Gewebephysiologie der

Pflanze von Dr. S. Strugger. Mit 103 Abbildungen (XI u. 181 S.)

1935

Gebunden RM 8.50

Dieses Buch soll in die experimentelle Physiologie der Zelle und der Gewebe einführen. Es ist ein erstmaliger Versuch, die wichtigsten Methoden und Ergebnisse der neueren Protoplasmaforschung für den Unterricht zusammenzufassen. Die Auswahl des Stoffes beschränkt sich bewußt nur auf das Experiment an der lebenden Zelle, wobei auf eine möglichst einfache Versuchsanstellung besonderer Wert gelegt wurde.

Da sowohl die Pflanzenphysiologie als auch die Pflanzenanatomie heute ohne die Hilfsmittel der Protoplasmaforschung kaum neue Wege beschreiten können, so soll diese Zusammenfassung den Weg zu einer glücklichen Synthese der Arbeitsrichtungen innerhalb der Botanik praktisch ebnen helfen.

Handbuch der Vererbungswissenschaft herausgegeben

von Professor Dr. **E. Baur†** und Professor Dr. **M. Hartmann**

Lieferung 5 (I, B): **Die cytologischen Grundlagen der Vererbung** von
Karl Bělař†. Mit 280 Abbildungen (412 S.) 1928

Einzelpreis geheftet RM 50.—

Zellen- und Befruchtungslehre in Einzeldarstellungen,

herausgegeben von Prof. Dr. **P. Buchner**

Teil I: **Die Geschlechtschromosomen** von Dr. **Franz Schrader**, Bryn
Mawr College, Biological Laboratory. Mit 43 Textabbildungen
(IV u. 194 S.) 1928

Subskriptionspreis geh. RM 16.—, Einzelpreis geh. RM 20.—

Praktikum der Zellenlehre von Prof. Dr. **Paul Buchner**

Erster Teil: **Allgemeine Zellen- und Befruchtungslehre**. Mit 160 zum
Teil farbigen Textfiguren. (336 S.) 1915

Gebunden RM 24.—

Regeneration und Transplantation von Professor Dr.

E. Korschelt

1. Band: **Regeneration**. Mit 395 Abbildungen (XII u. 818 S.) 1927
Gebunden RM 60.60

2. „ **Transplantation** unter Berücksichtigung der Explantation,
Pflanzenpfropfung und Parabiose. 2 Teile. Mit 698 Ab-
bildungen. (XX u. 1559 S.) 1931 Gebunden RM 141.—

Botanisch-mikroskopisches Praktikum für Anfänger von

Geh. Regierungsrat Prof. Dr. **M. Möbius**. Dritte Auflage. Mit
15 Textabbildungen. (XI u. 123 S.) 1909 Gebunden RM 4.50

PROTOPLASMA-MONOGRAPHIEN

Unter besonderer Mitwirkung von

R. Chambers (New York), E. Fauré-Fremiet (Paris), E. Küster (Gießen), F. E. Lloyd (Montreal), W. Seifriz (Philadelphia), J. Spek (Heidelberg), W. Stiles (Birmingham)

Herausgegeben von F. Weber (Graz) und J. Pekarek (Graz)

- Band 1: **The Colloid Chemistry of Protoplasm** by L. V. Heilbrunn (University of Michigan). Mit 15 zum Teil farbigen Abbildungen. (VII u. 356 S.) 1928 Gebunden RM 21.—
- „ 2: **Hydrogen-ion Concentration in Plant Cells and Tissues.** By J. Small (University of Belfast). Mit 28 Abb. (XII u. 421 S.) 1929 Gebunden RM 30.—
- „ 3: **Pathologie der Pflanzenzelle. Teil I: Pathologie des Protoplasmas** von E. Küster (Universität Gießen). Mit 36 Textabbildungen. (VIII u. 200 S.) 1929 Gebunden RM 15.—
- „ 4: **Chemie des Protoplasmas** von Alexander Kiesel (Universität Moskau). Mit 1 Textabbildung. (VIII u. 302 S.) 1930 Gebunden RM 20.—
- „ 5: **La physicochimie de la sexualité** par Ph. Joyet-Lavergne (Paris). Mit 12 Textabbildungen. (XI u. 457 S.) 1931 Gebunden RM 32.—
- „ 6: **The Mammalian Red Cell and the Properties of Haemolytic Systems** by Eric Ponder (New York). Mit 52 Abb. (XI u. 311 S.) 1934. Geb. RM 22.50
- „ 7: **Pathologie der Mitose** von Georg Politzer (Universität Wien). Mit 113 Textabbildungen. (VII u. 238 S.) 1934 Gebunden RM 16.20
- „ 8: **Temperature and Living Matter** by J. Bělehrádek (Masaryk University Brno). Mit 70 Textabbildungen. (X u. 277 S.) 1935 Gebunden RM 18.—
- „ 9: **Invisible radiation of organisms** von Otto Rahn (Cornell University). Mit 52 Textabbildungen. (X u. 215 S.) 1936 Gebunden RM 13.20
- „ 10: **Die kontraktile Zelle der Pflanzen** von Silvia Colla (R. Università Torino). Mit 77 Abbildungen. (IX und 168 S.) 1937 Gebunden RM 12.—
- „ 11: **Die Doppelbrechung von Karyoplasma, Protoplasma und Metaplasma** von W. J. Schmidt (Universität Gießen). Mit 88 Textabbildungen (VII und 388 S.) 1937 Gebunden RM 24.—
- „ 12: **Zell-Nekrobiose und Protoplasma-Tod** von W. W. Lepeschkin (Universität Wien). Mit 10 Abb. (IX und 198 Seiten.) 1937 Gebd. RM 13.—
- „ 13: **Pathologie der Pflanzenzelle. Teil II: Pathologie der Plastiden** von E. Küster (Universität Gießen). Mit 91 Abbildungen. (XI und 152 Seiten.) 1937 Gebunden RM 16.—
- „ 14: **Chromosomenbau** von Lothar Geitler, (Universität Wien). Mit 69 Textabbildungen. (VIII und 191 S.) 1938 Gebunden RM 15.—
- „ 15: **Submikroskopische Morphologie des Protoplasmas und seiner Derivate** von A. Frey-Wyssling (Eidg. Techn. Hochsch. Zürich). Mit 138 Textabbildungen (XIV und 317 Seiten.) 1938 Gebunden RM 22.—

In Vorbereitung sind weitere folgende Bände:

Permeability by S. C. and M. M. Brooks (University of California)

Physiologische Resistenz von W. Fuchs (Universität Halle)

Die Muskelzelle von A. Pischinger (Universität Graz)

The Structure of Protoplasm by W. Seifriz (University of Pennsylvania)

Vitalfärbung pflanzlicher Zellen und Gewebe von S. Strugger (Universität Jena)

Ausführliche Einzelprospekte kostenfrei